

**Zur Rolle von Endothelinen,
Arachidonsäuremetaboliten und PAF bei der
luftinduzierten Lungenembolie unter den
Modellbedingungen einer zellfreien
Organperfusion.**

Experimentelle Untersuchungen
an isolierten Kaninchenlungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
aus

Steffen Matthias Grünling
Böblingen

Gießen 2002

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik I

Leiter: Prof. Dr. med. H. Tillmanns

Klinische Pathophysiologie und Experimentelle Medizin

Leiter Prof. Dr. med. H. Neuhof

des Universitätsklinikums Giessen

Gutachter: Prof. Dr. Neuhof

Gutachter: Prof. Dr. Preissner

Tag der Disputation: 10.03.2004

Meinen Eltern gewidmet.

A. Einleitung und Zielsetzung	4
A.1. Lungenembolien	4
A.1.1. Klinische Bedeutung	4
A.1.2. Pathophysiologische Veränderungen unter den Bedingungen einer Lungenembolie	4
A.1.2.1. Veränderungen in der Lungenstrombahn	5
A.1.2.2. Auswirkungen auf den Gesamtkreislauf	5
A.1.2.3. Mediatorbeteiligung	7
A.2. Lipidmediatoren: Eicosanoide	8
A.2.1. Der Cyclooxygenaseweg	9
A.2.2. Signaltransduktion	9
A.2.3. Biologische Wirkungen der Cyclooxygenaseprodukte	10
A.2.4. Hemmung der Cyclooxygenase	11
A.2.5. Abbau der Cyclooxygenaseprodukte	11
A.2.6. Der Lipoxigenaseweg	11
A.3. Peptidhormone: Endotheline	13
A.3.1. Struktur und Aufbau	13
A.3.2. Synthese	13
A.3.3. Die Endothelin Converting Enzyme	14
A.3.4. Abbau und Elimination	15
A.3.5. ET-Rezeptoren	15
A.3.6. Signaltransduktion	16
A.3.6.1. Rezeptorsubtypen	17
A.3.7. Endothelin in der Physiologie und Pathophysiologie der Lunge	17
A.3.7.1. Effekte in der pulmonalen Strombahn	18
A.3.7.2. Effekt auf die Atemwege	20
A.3.7.3. Pathogenetische Beteiligung der Endotheline bei verschiedenen Erkrankungen	20
A.4. Der Plättchen-aktivierende Faktor (PAF)	21
A.4.1. Syntheseweg	22
A.4.2. Abbau	23
A.4.3. PAF-Rezeptoren	23
A.4.4. Biologische Wirkungen	24
A.5. Zielsetzung	26
B. Material und Methodik	28
B.1. Versuchstiere	28
B.2. Präparation und Entnahme der Lunge	28
B.3. Das System der isolierten und perfundierten Kaninchenlunge	29
B.4. Beatmungsmodus	32
B.4.1. Beatmungsparameter	32
B.5. Monitoring der Lungenmasse und des pulmonalarteriellen Druckes (PAP).	33
B.6. Perfusionsmodus	33

B.7.	Perfusionsmedium	34
B.8.	Perfusatprobenentnahme und -verarbeitung.	35
B.9.	Systemstabilität	36
B.10.	Mediatoranalyse	36
B.10.1.	Endothelinbestimmung	36
B.10.2.	Bestimmung von TXB ₂ und 6-keto-PGF _{1α} aus dem rezirkulierenden Perfusat.	36
B.11.	Verwendete Pharmaka	37
B.12.	Begründung der Antagonistendosierungen	37
B.13.	Statistische Auswertung	38
C.	Ergebnisse	39
C.1.	Vorversuche	39
C.1.1.	Embolievolumina	39
C.2.	Kontrollgruppe (Gruppe A)	39
C.2.1.	Verhalten des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) sowie Änderung der Masse des isolierten Lungenpräparates nach einer Bolusgabe von 0,75 ml Luft	39
C.2.1.1.	Veränderung des pulmonalarteriellen Druckes	40
C.2.1.2.	Massenänderung des Lungenpräparates (ΔG)	40
C.3.	Versuche mit medikamentöser Vorbehandlung	41
C.3.1.	Gruppe B: Luftembolie mit 0,75 ml Raumluft unter Vorbehandlung mit dem Cyclooxygenaseblocker Diclofenac	41
C.3.1.1.	Verhalten des PAP unter Cyclooxygenasehemmung	42
C.3.1.2.	Änderung der Lungenmasse unter Antagonisierung mit Diclofenac	42
C.3.2.	Gruppe C: Luftembolie nach Vorbehandlung mit dem Endothelin _A -Rezeptorantagonisten BQ123	44
C.3.2.1.	Veränderung des PAP nach Antagonisierung mit BQ123	44
C.3.2.2.	Änderung der Lungenmasse unter BQ123 Applikation	44
C.3.3.	Gruppe D: Luftembolie unter medikamentöser Vorbehandlung mit dem PAF-Antagonisten WEB 2086	46
C.3.3.1.	Verhalten des PAP unter Vorbehandlung mit WEB2086	46
C.3.3.2.	Änderung der Masse des Lungenpräparates unter Vorbehandlung mit WEB2086	46
C.3.4.	Gruppe E: Luftembolie unter Vorbehandlung mit dem Endothelin _B -Rezeptorantagonisten BQ 788	48
C.3.4.1.	Verhalten des PAP unter Antagonisierung mit BQ788	48
C.3.4.2.	Änderung der Masse des Lungenpräparates unter Vorbehandlung mit BQ 788	48
C.3.5.	Bestimmung von Endothelin-Spiegeln aus den Perfusatproben nach Luftembolie	49

C.3.6.	Bestimmung von TXB_2 und 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ aus dem Perfusat vor und nach Embolieinduktion	50
D.	Diskussion	51
D.1.	Allgemeine pathophysiologische Veränderungen in der Lunge unter den Bedingungen einer Luftembolie	51
D.2.	Mediatorbeteiligung an der Pathophysiologie der Luftembolie	52
D.2.1.	Bestimmung der Endothelin-Konzentrationen im zirkulierenden Krebs-Henseleit-Puffer vor und nach Embolieinduktion.	53
D.2.2.	Beteiligung von Endothelinen an den pathologischen Reaktionen der Lunge auf eine Luftembolie	55
D.2.3.	Beteiligung von TXA_2 an der initialen Drucksteigerung des PAP nach Luftembolie	58
D.2.3.1.	Lungenemboliebedingte Veränderungen der TXA_2 -Konzentration bei verschiedenen Spezies	58
D.2.3.2.	Beurteilung der hämodynamischen Veränderungen durch TXA_2	59
D.2.4.	Indirekter Nachweis einer Beteiligung des PAF an einer späten Ödembildungsreaktion nach Luftembolie	62
E.	Zusammenfassung	65
F.	Literaturverzeichnis	69

A. Einleitung und Zielsetzung

A.1. Lungenembolien

A.1.1. Klinische Bedeutung

Thrombembolien der Lunge gehören trotz einer heute als Standard durchgeführten Therapie mit Antikoagulantien immer noch zu den gefürchteten Komplikationen der Immobilisation von Patienten während eines Klinikaufenthaltes.

Aber auch Embolien durch andere Stoffe wie Luft, Fruchtwasser oder Fett stellen in den entsprechenden klinischen Situationen eine nicht unerhebliche Gefährdung für Patienten dar.

Die Luftembolie, die in der vorliegenden Studie näher untersucht wird, gewinnt ihre klinische Bedeutung durch Situationen, in denen invasive Maßnahmen an großlumigen venösen Blutgefäßen vorgenommen werden. In diesen Blutgefäßen liegt in Abhängigkeit von der Lagerung des Patienten, bezogen auf den rechten Vorhof, ein Unterdruck vor, durch den bei Eröffnung der Gefäße Luft angesaugt werden kann.

Beispiele hierfür sind die Implantation kardialer Schrittmacher, die Anlage von zentralen Venenverweilkathetern oder neurochirurgische Eingriffe an der hinteren Schädelgrube oder der Halswirbelsäule in sitzender Position. Durch den hohen Druckgradienten in Bezug auf den rechten Vorhof sind dabei die neurochirurgischen Eingriffe mit dem größten Risiko einer Luftembolie verbunden. Neben diesen Situationen des klinischen Alltages spielen Luftembolien auch in der Baromedizin eine Rolle: Hier kann es z.B. bei Tauchunfällen zur Embolisation von Organen kommen, wenn der unter ausgeglichenen Druckbedingungen physikalisch gelöste Stickstoff in Blut und Gewebe, bedingt durch eine zu rasche Dekompression, nicht mehr in Lösung gehalten werden kann und frei wird.

A.1.2. Pathophysiologische Veränderungen unter den Bedingungen einer Lungenembolie

Unter den Bedingungen einer Lungenembolie kommt es zu einer Fülle pathologischer Veränderungen im Bereich respiratorischer und hämodynamischer Parameter der Lunge, auf die im Folgenden näher eingegangen wird. Dabei wird durch Veränderungen auf der Lungenebene auch der Gesamtorganismus beeinflusst.

A.1.2.1. Veränderungen in der Lungenstrombahn

Zu den primären Veränderungen auf Lungenebene zählt ein vom Grad der Lungenembolie abhängiger, massiver Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes [6, 13, 42, 143].

Zu einer *Störung des Gasaustausches* kommt es dabei durch mehrere Faktoren: Durch die embolusbedingte teilweise Verlegung der pulmonalen Strombahn nimmt der alveoläre Totraum zu, da diese Lungenabschnitte zwar ventiliert, gleichzeitig aber minderperfundiert werden. Durch die Umverteilung des Blutflusses mit verminderter Perfusion der restlichen Strombahngebiete wird der pulmonale Gasaustausch weiter gestört: Einerseits werden arterio-venöse Shunts eröffnet, die verhindern, daß ein Teil des Blutes an der Oxygenierung teilnimmt, andererseits sorgt aber auch die verkürzte kapilläre Transitzeit für eine reduzierte Diffusionskapazität [6, 42, 143].

Für die Ventilation konnte zumindest im Tierversuch eine Zunahme des Atemwegswiderstandes gezeigt werden [6, 42, 143], die auf unterschiedlichen Mechanismen, unter anderem auch auf der Wirkung unterschiedlicher biogener Mediatoren wie Histamin und Serotonin basiert. Ebenfalls erwiesen werden konnte eine Ödembildung der Lunge. In den dazu durchgeführten experimentellen Emboliestudien wurden neben Parametern wie dem Lungengewicht und dem pulmonalen Lymphfluß, die als Indikatoren für eine Zunahme der interstitiellen Flüssigkeit dienen, auch die Proteinkonzentration in der aus der Lunge gewonnenen Lymphflüssigkeit gemessen.

Die in diesem Zusammenhang festgestellte erhöhte Lymphproteinkonzentration gibt deutliche Hinweise darauf, daß die unter Luftembolien auftretende interstitielle Flüssigkeitseinlagerung nicht durch einen erhöhten hydrostatischen Druck in den Kapillaren, sondern durch eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität bedingt ist [3, 31, 49, 50, 56, 120].

A.1.2.2. Auswirkungen auf den Gesamtkreislauf

In Abhängigkeit vom Grad der pulmonalen Strombahnverlegung durch den Embolus ergeben sich unterschiedliche Auswirkungen auf den Gesamtorganismus.

Bei massiven Lungenembolien kann der plötzliche Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes zu einem akuten Cor pulmonale führen.

Durch die Rechtsherzinsuffizienz wird dabei das Blutangebot an das linke Herz vermindert. Gemeinsam mit einer zusätzlich auftretenden druckbedingten Verdrängung des Kammerseptums in Richtung des linken Ventrikels, die die diastolische linksventrikuläre Füllung behindert, resultiert ein akuter Abfall des Herzzeitvolumens und des systemischen arteriellen Blutdruckes.

Hinsichtlich der myokardialen Sauerstoffbilanz verändert sich die Situation vor allem zu Ungunsten des rechten Herzens. Durch die massiv gesteigerte rechtsventrikuläre Nachlast kommt es zu einem Anstieg der myokardialen Wandspannung v.a. im Bereich des rechten Ventrikels, die gemeinsam mit dem verminderten Perfusionsdruck der Koronararterien zu einer Minderdurchblutung besonders im Strombereich der A. coronaria dextra führt (Abb. 1) [6, 13, 143].

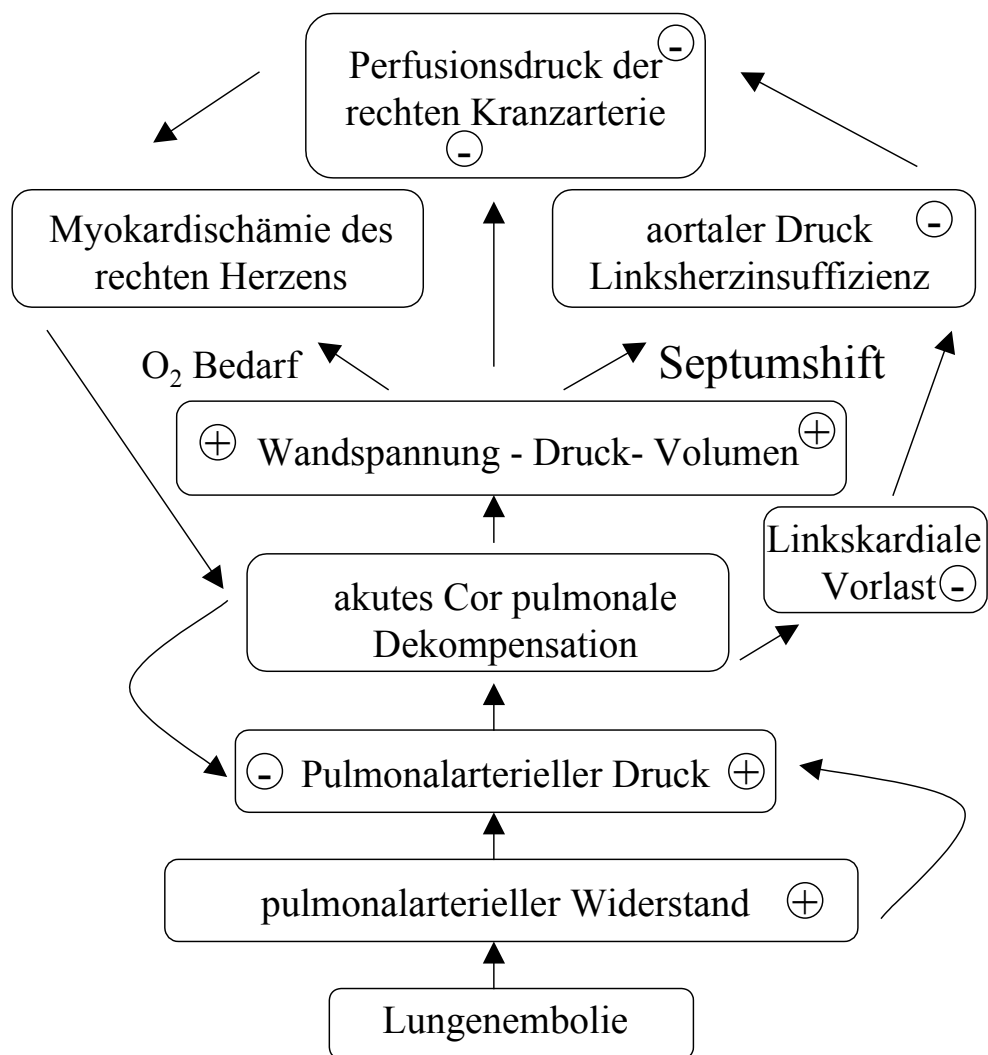


Abb. 1: Bildliche Darstellung der hämodynamischen Veränderungen im Lungen- und Systemkreislauf unter den Bedingungen einer akuten Lungenembolie.

A.1.2.3. Mediatorbeteiligung

Je nach Grad der Lungenembolie führt die physikalische Verlegung der Lungenstrombahn durch den Embolus während einer akuten Lungenembolie zu einer pulmonalarteriellen Drucksteigerung, die nur zum Teil durch die Verminderung des Gesamtgefäßquerschnittes erklärt werden kann. Verschiedene Studien konnten zeigen, daß unterschiedliche Mediatoren und Mediatorgruppen an der Entstehung der pathologischen Zustände der Lunge, wie der pulmonalarteriellen Drucksteigerung, der

Erhöhung des Atemwegswiderstandes und der Kapillarpermeabilität beteiligt sind.

Zu diesen in der Vergangenheit diskutierten Mediatorgruppen gehören die Arachidonsäuremetabolite und der Plättchen-aktivierende Faktor (PAF) als Vertreter der Lipidmediatoren sowie auch andere Botenstoffe wie die biogenen Amine Histamin und Serotonin [13, 42].

Neben diesen Mediatoren geben verschiedene innerhalb der letzten Jahre veröffentlichte Studien auch Hinweise auf eine Beteiligung des 1982 von Yanagisawa entdeckten vasoaktiven Peptidhormons Endothelin (ET) [162].

Im Folgenden werden die oben angesprochenen Mediatoren hinsichtlich ihrer Synthese, ihrer Elimination sowie ihrer biologischen Wirkungen dargestellt.

A.2. Lipidmediatoren: Eicosanoide

Lipidmediatoren spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation biologischer Vorgänge in den unterschiedlichsten Systemen des menschlichen und tierischen Organismus.

Unter den Lipidmediatoren nehmen die Oxydationsprodukte der Arachidonsäure, die Eicosanoide, eine wichtige Stellung ein.

Ausgangspunkt ihrer Synthese ist die Arachidonsäure, eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, die durch Katalyse des Enzyms Phospholipase A₂ aus Membranphospholipiden wie zum Beispiel dem Phosphatidylinositol abgespalten werden kann [97].

Charakteristisch für die Arachidonsäuremetabolite sind deren vorwiegend lokale Wirksamkeit. Grund hierfür sind die kurzen Halbwertszeiten, die die biologisch aktiven Metaboliten der Arachidonsäure aufweisen (Bsp.: TXA₂ ca. 30 s, Prostacyclin in wässrigem Milieu ungefähr 2-3 min). Sie werden rasch enzymatisch abgebaut bzw. zerfallen nichtenzymatisch in weniger wirksame Produkte [5].

Eicosanoide sind auf der einen Seite wichtige Bestandteile bei der physiologischen Regulation einer Vielzahl von biologischen Systemen (z.B. Lunge, Leber, Blutzellen wie Thrombozyten, Makrophagen, Mastzellen und Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN)), sind aber auch häufig beteiligt, wenn Organfunktionen unter pathologischen

Umständen versagen. Dabei werden von den unterschiedlichen Zellarten in Abhängigkeit von ihrem Funktionszustand und ihrer enzymatischen Ausstattung Arachidonsäuremetabolite gebildet, die unter Umständen auch gegensätzliche Wirkungen an den Zielorganen entfalten können [118]. Als Beispiel kann hier die vasodilatierende Wirkung von Prostacyclin (PGI_2) im Gegensatz zur vasokonstringierenden Wirkung des Thromboxans (TXA_2) genannt werden. Die von den Mediatoren induzierten Effekte sind folglich oft als eine Überlagerung der einzelnen Wirkungen dieser Stoffe anzusehen [136].

Die Eicosanoide werden nicht aus intrazellulären Depots ausgeschüttet, wie zum Beispiel bei Acetylcholin, sondern werden auf einen adäquaten Stimulus hin neu gebildet und freigesetzt [21]. Solche Stimuli können zum Beispiel Bakterientoxine, Produkte der klassischen Kaskadensysteme oder freigesetzte Zytokine sein [89].

A.2.1. Der Cyclooxygenaseweg

Die Synthese der Metabolite der Arachidonsäure erfolgt über zwei große Pfade. Die dabei gebildeten Stoffe werden in vier Gruppen eingeteilt, nämlich Prostaglandine und Thromboxan, Leukotriene sowie Hydroxyeicosatetraenoidsäuren (HETE's).

Ein Syntheseweg erfolgt über die Cyclooxygenase. Dieses Enzym besteht aus zwei Untereinheiten von jeweils 70 000 Dalton und katalysiert membranständig die Umwandlung der Arachidonsäure in die beiden Endoperoxide PGG_2 und PGH_2 [166]. Ausgehend von diesen beiden Intermediärprodukten entstehen in Abhängigkeit von der Enzymausstattung der synthetisierenden Zellen verschiedene Mediatoren. Während in Thrombozyten vorwiegend TXA_2 synthetisiert wird, steht bei Gefäßendothelzellen Prostacyclin an erster Stelle. Im Nierenmark überwiegt hingegen PGE_2 [118].

A.2.2. Signaltransduktion

Durch die Bindung der Eicosanoide an spezifische Rezeptoren der Zielzellen werden intrazellulär die Konzentrationen von Second-Messenger Molekülen wie cAMP und cGMP moduliert [21]. So führt zum Beispiel PGE_2 bei vielen Zellarten zu einer Erhöhung des cAMP-Spiegels.

Bei anderen Zellen wie den Thrombozyten wird die cAMP Bildung durch PGI_2 induziert. Im Gegensatz dazu wird der cAMP-Spiegel in Thrombozyten durch TXA_2 vermindert. Andere Mediatoren dieser Gruppe steigern eher die Aktivität der Guanylatcyclase [97].

A.2.3. Biologische Wirkungen der Cyclooxygenaseprodukte

Der besseren Übersicht wegen werden die sehr unterschiedlichen Effekte der Cyclooxygenaseprodukte tabellarisch aufgeführt (Tab.1).

Thromboxan A_2 (TXA_2)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ fördert die Plättchenaggregation ◆ vasokonstriktorisch ◆ bronchokonstriktorisch ◆ fördert die Mukussekretion
Prostaglandin D_2 (PGD_2)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Vasokonstriktion ◆ Bronchokonstriktion
Prostaglandin E_2 (PGE_2)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Osteoklasten aktivierend ◆ beteiligt an der Sollwertverstellung der Körpertemperatur (Fieberinduktion) ◆ uteruskontrahierend ◆ Broncho- und Vasodilatation ◆ Relaxation der gastrointestinalen Muskulatur
Prostacyclin (PGI_2)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bronchodilatation ◆ Vasodilatation
$\text{PGF}_{2\alpha}$	<ul style="list-style-type: none"> ◆ erhöht die Kontraktionsbereitschaft des Uterus ◆ Bronchokonstriktion ◆ steigert die Wirksamkeit von Katecholaminen

Tabelle 1: Übersicht über wichtige Mediatorwirkungen des Cyclooxygenaseweges. Aus Koch, Thea: Pathomechanismen und Mediatoren der systemisch inflammatorischen Reaktion (SIRS) und

Möglichkeiten zur therapeutischen Intervention. Habilitationsschrift, Fakultät für Klinische Medizin Mannheim, 1995.

A.2.4. Hemmung der Cyclooxygenase

Eine Hemmung der Synthese von Prostaglandinen und Thromboxan kann mit nichtsteroidalen Antiphlogistika erreicht werden. Gemeinsam liegt der Wirkung dieser Pharmakagruppe eine Verminderung der Cyclooxygenaseaktivität zugrunde, die einzelnen Substanzen unterscheiden sich jedoch hinsichtlich ihres molekularen Wirkmechanismus.

Das von uns in der vorliegenden Studie verwendete Diclofenac (Voltaren®) entfaltet seine Wirkung durch kompetitive Hemmung der Cyclooxygenase, während Pharmaka wie die Acetylsalicylsäure die Aminosäure Serin im aktiven Zentrum des Enzyms acetylieren und die Cyclooxygenase dadurch irreversibel inaktivieren [166].

A.2.5. Abbau der Cyclooxygenaseprodukte

Während die Prostanoiden zunächst über eine PG-15-OH Dehydrogenase und PG-13-Reduktasen zu Stoffen mit nur noch sehr geringfügiger biologischer Aktivität umgebaut und im Anschluß daran über die α - und β -Oxydation des Fettstoffwechsels weiter abgebaut werden, hydrolysieren Prostacyclin (PGI₂) und Thromboxan nichtenzymatisch zu stabilen aber inaktiven Produkten, nämlich 6-keto-PGF_{1 α} und Thromboxan B₂ [89].

A.2.6. Der Lipoxigenaseweg

Die Metabolisierung von Arachidonsäure durch verschiedene Lipoxigenasen stellt den initialen Schritt eines weiteren Pfades der Eicosanoidmediatorsynthese dar.

Über diesen Pfad entstehen drei Stoffgruppen: die Cysteinyl-Leukotriene, die Hydroxy-Eicosatetraensäuren (HETEs) sowie Leukotrien B₄ [89].

Alle drei genannten Substanzklassen entstehen dabei über ein instabiles Zwischenprodukt, die 5-Hydroperoxyeicosatetraensäure (5-HPETA). Dieses direkte Reaktionsprodukt der Lipoxigenasen wird einerseits durch Hydroperoxidasen schnell in die entsprechenden Monohydroxy-Fettsäuren, die oben genannte Substanzklasse der Hydroxy-

Eicosatetraenoidsäuren (HETEs), umgewandelt. Andererseits stellt ein weiteres wichtiges Umwandlungsprodukt aus 5-HPETA, das Leukotrien A₄, den Ausgangspunkt der Cysteinyl-Leukotrien- und Leukotrien B₄ Synthese dar [97].

Cysteinylleukotriensynthese: Durch Anlagerung von Glutathion an Leukotrien A₄ (Glutathion-S-Transferase) entsteht so zunächst das Leukotrien C₄ (LTC₄), aus dem durch schrittweise Abspaltung von Glutamat und Glycin die Leukotriene D₄ und E₄ (LTD₄, LTE₄) entstehen [97].

Leukotrien B₄ hingegen wird aus LTA₄ durch eine Epoxyhydrolase synthetisiert [51, 67, 97].

Syntheseorte: Die verschiedenen Lipoxygenaseprodukte werden in unterschiedlichen Zellarten in Abhängigkeit von den dort vorhandenen Enzymmustern produziert. Während aufgrund der hohen Konzentration des glutathionübertragenden Enzyms Glutathion-S-Transferase in diesen Zellen die *Cysteinylleukotriene* (LTC₄, LTD₄, LTE₄) z.B. vorwiegend in Eosinophilen Granulozyten und Mastzellen gebildet werden [165, 171], wird Leukotrien B₄ z.B. bevorzugt in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten gebildet [51, 67].

Biologische Wirkungen: 1938 machten Feldberg und Kellaway die Entdeckung, daß bei mit Cobragift behandelten Lungen Substanzen gebildet werden, die in der Lage sind, eine Kontraktion glatter Muskulatur hervorzurufen. Bei diesen als "slow reacting substance of anaphylaxis" bezeichneten Stoffen handelt es sich um die schwefelhaltigen Leukotriene C₄, D₄, E₄, sowie zu einem geringeren Teil um LTA₄ [97].

Eine Rolle spielen die Cysteinylleukotriene z.B. in der Pathogenese IgE-vermittelter Überempfindlichkeitsreaktionen, wie dem Asthma Bronchiale, wo sie neben anderen Mediatoren, wie z.B. Histamin, einen Bronchospasmus hervorrufen.

Auch bei der Ödementstehung durch inflammatorische Prozesse haben die Cysteinylleukotriene eine Bedeutung. Dabei wurden zwei Mechanismen diskutiert: Durch postkapilläre Vasokonstriktion kann es

durch den erhöhten intrakapillären Druck am venösen Ende der Kapillaren zu einer Gleichgewichtsverschiebung zwischen Filtration und Resorption und damit zur Ödembildung kommen [28, 36, 78]. Andere Untersuchungen geben jedoch auch Hinweise darauf, daß diese Leukotriengruppe in der Lage ist, auch direkt die Gefäßpermeabilität zu steigern und damit zu vermehrtem Flüssigkeitsausstrom und Austritt von kolloidosmotisch wirksamen Proteinen zu führen [30].

Auch *Leukotrien B₄* spielt eine wichtige Rolle bei inflammatorischen Prozessen. Neben seinen chemotaktischen Eigenschaften auf Leukozyten übernimmt es Steuerungsaufgaben bei der Auslösung des "Oxygenic Burst" neutrophiler Granulozyten und ist bei der Medierung der Leukozyten-Endothel-Interaktionen beteiligt [89].

Die *Hydroxy-Eicosatetraenoidsäuren* (HETEs) haben neben ihrer chemotaktischen Wirkung auf Granulozyten [102] modulierende Einflüsse auf die Cyclooxygenase, die Lipoxxygenasen sowie Phospholipasen [158, 159].

A.3. Peptidhormone: Endotheline

A.3.1. Struktur und Aufbau

1988 isolierten Yanagisawa et al. [170] ein Peptid aus Endothelzellkulturen der Schweineaorta mit stark vasokonstriktorisches Eigenschaften, das Endothelin-1 (ET-1) genannt wurde.

Weitere Untersuchungen zeigten, daß ET-1 nur ein Mitglied einer Familie gleichartig aufgebauter vasoaktiver Peptidhormone ist, zu der neben dem bereits erwähnten ET-1 auch die heute bekannten Endotheline 2 und 3 (ET-2, ET-3) gehören.

Alle drei Peptide bestehen aus 21 AS, verfügen über ein hydrophobes C-terminales Ende sowie über zwei Disulfidbrücken zwischen den Positionen 1-15 und 3-11. Ihre Primärstruktur unterscheidet sich bei ET-2 nur in zwei, bei ET-3 nur in fünf Aminosäuren von der des ET-1 [110].

A.3.2. Synthese

Bei der *Synthese* von ET-1 wird als primäres Translationsprodukt in den jeweiligen Zellen zunächst *praeproET-1* gebildet, ein Protein, das im menschlichen Organismus aus 212 AS besteht. Durch intrazelluläre Spaltung entsteht aus *praeproET-1* ein 38 AS langes Intermediärprodukt,

big ET-1. Vermittelt durch das ET-1 Converting Enzyme (ECE), das die Lösung der Säureamidbindung zwischen Trp²¹ und Val²² katalysiert, wird der Umbau zu ET-1 schließlich vollendet [46].

A.3.3. Die Endothelin Converting Enzyme

Das zunächst entdeckte Endothelin Converting Enzyme 1 (ECE-1), ein Protein mit einer Länge von 758 AS (Mensch) und einer hohen Sequenzhomologie zu ECE von Ratten oder Rindern [139] hat seine Genlokalisierung auf dem langem Arm des Chromosoms 1 (1p36) [157].

Weitere Untersuchungen zeigten, daß neben dem ECE-1 noch weitere ECE-Aktivitäten existieren. So konnte ein Enzym mit ECE-Aktivität (ECE-2) [44, 157] geklont werden, das sich in einigen charakteristischen Punkten vom ECE-1 unterscheidet: Während ECE-1 sein pH-Optimum im neutralen Bereich hat, ist das ECE-2 bei pH 7 praktisch inaktiv und hat sein pH-Optimum bei pH 5,5 [44]. Auch bei der Lokalisation der Enzyme auf zellulärer Ebene bestehen Unterschiede. So befindet sich das ECE-1 membranständig an der Zelloberfläche [44, 103, 153], während das ECE-2 ein intrazellulär im Bereich des Golgi-Apparates gelegenes Enzym ist [44, 137, 153].

Sowohl ECE-1 als auch ECE-2 sind hemmbar durch Phosphoramidon, wobei ECE-2 durch diesen Antagonisten um den Faktor 250 stärker in seiner Aktivität gehemmt wird als ECE-1 [44]. Weder ECE-1- noch ECE-2 können durch Thiorphan oder Captopril inhibiert werden. ECE-2 ist in seiner AS-Sequenz zu 59% mit ECE-1 identisch [44]. Diese Sequenzähnlichkeit der beiden Enzyme und ihre Verwandtschaft mit der Neutralen Endopeptidase 24.11 sowie dem menschlichen Kell-Blutgruppenprotein (basierend auf cDNA-Ähnlichkeiten sowie phylogentischen Studien) führte dazu, daß einige Autoren diese Enzyme in eine neue Subklasse der Metalloproteinasen einordnen [44, 157].

Zusätzlich entstehen bei der Synthese des ECE-1, wahrscheinlich durch alternatives Splicing, zwei, nach neueren Untersuchungen sogar drei verschiedene Unterformen (ECE-1_a, ECE-1_b, ECE-1_c), die sich in ihrer N-terminalen AS-Sequenz voneinander unterscheiden [137]. Diese Sequenzunterschiede haben aber keinen Einfluß auf die spezifischen Enzymaktivitäten oder die Substratspezifität der beiden Enzyme [140].

Unterschiede der ECE bezüglich der Affinität zu den Mitgliedern der Familie der Endotheline (ET-1, ET-2, ET-3) sind Gegenstand der Diskussion [11, 44].

A.3.4. Abbau und Elimination

Die Elimination von ET aus der Blutbahn geschieht über mehrere Mechanismen. Versuche mit Jod-125 markierten, intravenös gegebenen ET-1 im Ganztiersversuch zeigten eine signifikante Anreicherung der Tracersubstanz v.a. in den Lungen, Nieren und der Leber der Versuchstiere, die durch Bindung des Peptidhormones v.a. an ET_B-Rezeptoren zustande kommt. Dieser Vorgang ist durch den selektiven ET_B-Rezeptorantagonisten BQ788 inhibierbar [37, 52, 54].

Weitere Hinweise, daß die Lunge ein wichtiges Organ bei der Elimination von ET darstellt, finden sich durch Versuche an menschlichen Lungen, bei denen über einen Rechtsherzkatheter freiwilligen Versuchspersonen niedrige Dosen von ET appliziert wurden. Auch hier zeigte sich eine hohe Clearance für ET-1 [161].

Neben dieser Rezeptorbindung sind für die Elimination und den Abbau von ET membranständige Enzyme wie das ECE [103], die Neutrale Endopeptidase 24.11 (EC 3.4.24.11) [1, 115] sowie Enkephalinasen glatter Gefäßmuskelzellen [40] verantwortlich.

Darüberhinaus sind auch aus aktivierten PMN in das Blut freigesetzte Enzyme wie Kathepsin G und Elastasen zum Abbau von ET in der Lage [45, 121].

A.3.5. ET-Rezeptoren

Die Endotheline entfalten ihre Wirkungen an den einzelnen Organen durch die Bindung an spezifische Rezeptoren.

Durch die unterschiedliche Affinität der Rezeptoren zu den einzelnen Peptidhormonen aus der Familie der Endotheline sind heute zwei Endothelinrezeptortypen, der ET_A- und ET_B-Rezeptor, bekannt, deren DNA-Sequenz im Versuch bereits isoliert, vervielfältigt und nach intrazellulärer Einschleusung exprimiert werden konnte [7, 131].

Der Endothelin_A-Rezeptor weist eine hohe Affinität zu ET-1 und ET-2 auf, bindet ET-3 aber nur in weit geringerem Maße.

Der Endothelin_B-Rezeptor mit einem Molekulargewicht von ca. 50 kDa [32] weist eine annähernd gleiche Affinität zu allen drei Isoeptiden der Endotheline auf [131]. Dies basiert auf der Tatsache, daß für diesen Rezeptor die Bindung der N-Termini der Isoeptide signalauslösend wirkt, die bei ET-1, 2 und 3 identisch sind [110].

Strukturell handelt es sich um einen an G-Protein gekoppelten Rezeptor, dessen Sekundärstruktur siebenfach die Zellmembran durchschneidet und einen extrazytoplasmatischen N- sowie einen in der Zelle gelegenen C-Terminus besitzt [7]. Die Bereiche des Rezeptors, die eine Rolle bei der Ligandenbindung spielen, konnten genauso identifiziert werden wie der Ort, der für die Signaltransduktion verantwortlich ist [32].

A.3.6. Signaltransduktion

Über die Signaltransduktionswege auf zellulärer Ebene konnte für die ET_A- und ET_B-Rezeptoren bereits in gewissem Umfang Klarheit gewonnen werden.

Bei der Bindung an die zellmembranständigen ET-Rezeptoren wird ein aus drei Untereinheiten zusammengesetztes G-Protein aktiviert. Das G-Protein wiederum aktiviert verschiedene Enzyme und transmembranöse Kanäle. Darunter fallen nach heutiger Datenlage die Phospholipase A₂, C und D, die Adenylat/Guanylatcyclase sowie Na⁺/H⁺-Austauscherkanäle und Ca²⁺-Kanäle [32].

Auf die Aktivierung der Adenylatcyclase und der Guanylatcyclase hin werden die second messenger Moleküle cAMP bzw. cGMP gebildet. Diese aktivieren verschiedene Proteinkinasen (z.B. Proteinkinase A und G), die über weitere Prozesse z.B. eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur hervorrufen können [32].

Die Aktivierung der Phospholipase C führt über den second messenger Inositoltriphosphat (IP₃) zu einer gesteigerten Aktivität z.B. der endothelialen NO-Synthase, was NO-mediert eine Relaxation der Gefäßmuskulatur zur Folge haben kann.

Durch die Phospholipase A₂ greift die ET-Rezeptoraktivierung auch in den Eicosanoidstoffwechsel ein. Hier speist die entstehende Arachidonsäure

sowohl den Lipoxygenase- als auch den Cyclooxygenaseweg mit folglich gesteigerter Synthese z.B. von Leukotrienen, PGE₂, TXA₂ [32].

Prinzipiell unterscheidet Douglas [33] hinsichtlich der Auswirkungen der Signaltransduktion zwei Wege: Die akuten biologischen Effekte (z.B. Vasokonstriktion, Bronchokonstriktion) werden bei der Bindung von ET an seine Rezeptoren über die Aktivierung der vorgenannten second messenger Systeme initiiert.

Neben diesem Weg werden nach Douglas längerfristige Veränderungen der zellulären Proliferation und Differenzierung, wie beispielsweise die Hypertrophie glatter Muskelzellen, über eine komplizierte Kaskade der Interaktion mit dem Zellkern vermittelt [33].

A.3.6.1. Rezeptorsubtypen

Die ET-Rezeptoren werden bisher in zwei Hauptklassen, die ET_A- und die ET_B-Rezeptoren eingeteilt. Auch die Nomenklaturkonferenz der IUPHAR 2002 kam zu dem Schluß, daß anhand der bisher bekannten Agonisten und Antagonisten der Rezeptoren und vor dem Hintergrund der Genloci der Rezeptoren bisher kein Hinweis auf verschiedene Rezeptoruntertypen wie z.B. den zunächst postulierten ET_{B1}- oder ET_{B2}-Rezeptoren besteht [29].

A.3.7. Endothelin in der Physiologie und Pathophysiologie der Lunge

Zahlreiche Studien der letzten Jahre zeigen ein breites Spektrum biologischer Wirkungen der ET u.a. auch in der Lunge. Auch bei verschiedenen Erkrankungen der Lunge gibt es Hinweise auf deren Beteiligung. Gleichwohl konnte der Nachweis, daß Endotheline einen maßgeblichen Anteil an der Pathogenese dieser Erkrankungen haben, bislang nicht erbracht werden.

Obwohl z.B. bei Patienten mit ARDS [34, 92] ein erhöhter ET Spiegel im Vergleich zu gesunden Probanden aufgezeigt werden konnte, ist die Gewichtung des ET-Effekts bei der Krankheitsentstehung in Relation zu anderen, evtl. übergeordneten Mediatorsystemen, noch unklar.

Im Folgenden werden die Wirkungen der Endotheline in den verschiedenen Bereichen der Lunge dargestellt.

A.3.7.1. Effekte in der pulmonalen Strombahn

Der Effekt, den Endothelin auf die pulmonale Strombahn hat, ist und war Grundlage vieler Untersuchungen der letzten Jahre. Letztlich herrscht heute nur beschränkter wissenschaftlicher Konsens bezüglich dieses Punktes. Nachfolgend wird versucht, anhand unterschiedlicher Untersuchungsmethoden die Wirkungen aufzuzeigen, die ET in der Lungenstrombahn hat.

Im Hinblick auf den Effekt, den Endothelin auf den Tonus von Lungengefäßen hat, zeigte sich, daß dieser einerseits konzentrationsabhängig ist, andererseits aber auch von der vorbestehenden Wandspannung des jeweiligen Gefäßes abhängt.

Während z.B. bei nicht präkontrahierten Lungengefäßen ET-1 als potenter Vasokonstriktor fungiert, führt es in niedriger Dosierung bei schon vorkontrahierten Gefäßen zur Vasodilatation [16, 25, 27, 70, 95].

ET-A und ET-B rezeptorvermittelte Wirkung in unterschiedlichen Abschnitten der Lungenstrombahn

Die vasoaktiven Wirkungen von Endothelinen werden, wie in anderen Geweben, auch in der Lunge über spezifische Rezeptoren vermittelt. Dabei spricht vieles dafür, daß in Abhängigkeit von Abschnitt und Kaliber der Pulmonalgefäße ET_A- und ET_B-Rezeptoren bei der Vermittlung dieser Effekte eine unterschiedlich große Rolle spielen.

Methodisch wurden bisher hierzu v.a. funktionelle Untersuchungen an isolierten Gefäßabschnitten und die Autoradiographie angewandt. Die Studien am Modell der isolierten und perfundierten Lungen spiegeln hingegen eher einen summatorischen Effekt auf den pulmonalen Widerstand mit Betonung der arteriolen Widerstandsgefäße wider.

Untersuchungen an isolierten Gefäßabschnitten/Autoradiographie:

In den großen, proximal vom Herzen gelegenen Arterien zeigen autoradiographische Studien ein deutliches Überwiegen der ET_A- gegenüber den ET_B-Rezeptoren [54]. In Übereinstimmung hierzu ergeben funktionelle in-vitro Untersuchungen an denselben Gefäßabschnitten, daß die beobachtete Vasokonstriktion durch ET-1 hauptsächlich über ET_A-

Rezeptoren vermittelt wird und den ET_B-Rezeptoren nur eine geringe vasokonstriktorische Potenz zukommt [20, 72, 74, 100, 147].

Im Gegensatz dazu zeigt sich an den pulmonalen Gefäßen geringeren Durchmessers neben den ET_A- auch eine Beteiligung der ET_B-Rezeptoren an der Vermittlung der Vasokonstriktion [15, 100, 104, 105].

Untersuchungen am Modell der isolierten und perfundierten Lunge:

Korrespondierend zu den oben erwähnten Ergebnissen, daß ET in Abhängigkeit von der Vorspannung der Gefäßwand und der Applikationskonzentration dieses Hormones zur Vasodilatation oder -konstriktion führen kann, zeigt sich in diesem Versuchsmodell, daß Perfusatkonzentrationen von ET im nanomolaren Bereich bei vorher nicht gesteigertem Gefäßtonus zur Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) führen [8, 15, 18, 19, 62, 132, 155, 156].

Ein PAP-senkender Effekt durch ET-Applikation zeigt sich bei zuvor erhöhtem Gefäßtonus und niedriger ET Konzentration [27, 41, 125].

Die Datenlage bezüglich der Frage, welche ET-Rezeptorsubtypen für den Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes im Modell der isolierten und perfundierten Kaninchenlunge unter ET-Stimulation verantwortlich sind, stellt sich bisher noch uneinheitlich dar:

Versuche unserer Arbeitsgruppe an isolierten und perfundierten Kaninchenlungen zeigen, daß eine systemische ET-Applikation zu einem biphasischen Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) führt. Dabei kann der Effekt der ET-1 Applikation auf den PAP durch den spezifischen ET_A-Rezeptorantagonisten BQ123 vollständig gehemmt werden. Somit stellt sich die ET-1-induzierte Druckreaktion in der Kaninchenlunge überwiegend ET_A vermittelt dar [18,19]. Auch Studien anderer Arbeitsgruppen, die an Kaninchen- und Rattenlungen durchgeführt wurden, untermauern diese Ergebnisse [8, 15, 91].

Gleichwohl muß erwähnt werden, daß Ergebnisse anderer Gruppen hinsichtlich dieser Fragestellung dem ET_B-Rezeptor neben dem ET_A-Rezeptor als Vermittler der Drucksteigerung in der pulmonalarteriellen Strombahn eine unterschiedlich große Rolle zuweisen [62, 132, 155, 156].

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Endotheline an den pulmonalen Gefäßen sowohl vasokonstriktorisch als auch dilatatorisch wirken können. Dies ist einerseits ein konzentrationsabhängiger Effekt, andererseits spielt die Vorspannung der Gefäßwand und damit evtl. auch die Interaktion mit anderen Mediatorsystemen der Lunge eine Rolle.

Es zeigt sich, daß in Abhängigkeit vom Gefäßabschnitt und Durchmesser das Verhältnis von ET_A- zu ET_B-Rezeptoren variiert und vasoaktive Effekte an diesen Orten von unterschiedlichen Rezeptorpopulationen vermittelt werden. Welche Rezeptoren an welchen Orten jedoch die Effekte vermitteln, kann anhand der Datenlage für alle Spezies zur Zeit noch nicht klar abgegrenzt werden.

A.3.7.2. Effekt auf die Atemwege

Ähnlich wie in der pulmonalen Strombahn haben die Endotheline in den Atemwegen die Fähigkeit, den Bronchotonus und damit den Atemwegswiderstand zu beeinflussen. In niedrigen Dosierungen und bei bereits erhöhtem Atemwegstonus führen Endotheline bei verschiedenen Spezies zur Bronchodilatation, bzw. zu einem biphasischen Verlauf mit initialer Dilatation und anschließender Konstriktion [9, 47, 64, 168]. In höheren Dosierungen und bei basalem Bronchotonus führt die ET-Gabe zur Bronchokonstriktion [2, 61, 64, 72, 73, 74, 76, 107, 108, 130, 152].

Hinsichtlich des zeitlichen Verlaufes zeigte sich bei in vivo Studien ein Wirkmaximum der Bronchokonstriktion nach 1-2 min. 15 min nach ET-Gabe war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar [39, 101, 111, 122].

Beim Menschen zeigte sich ein deutliches Überwiegen der durch den ET_B-Rezeptorsubtyp vermittelten Bronchokonstriktion [61, 73]. Eine abschließende, für alle Spezies gültige Aussage darüber, welcher Rezeptorsubtyp den ET-Stimulus im Bronchialsystem vermittelt, ist bisher aber noch nicht möglich und bedarf weiterer Untersuchungen.

A.3.7.3. Pathogenetische Beteiligung der Endotheline bei verschiedenen Erkrankungen

Wie bereits dargestellt, haben die Endotheline einen Einfluß auf physiologische Parameter der Lunge und anderer Organe. Aufgrund dieser Ergebnisse stellt sich die Frage, ob Endotheline auch maßgeblich an der Pathogenese verschiedener Krankheitsbilder beteiligt sind.

Hinsichtlich des "Adult Respiratory Distress Syndrome" ARDS, einer häufigen Komplikation bei Intensivpatienten nach Trauma, Sepsis oder größeren operativen Eingriffen, konnte in zwei Studien [34, 92] ein erhöhter Plasmaspiegel von ET-1 im Vergleich zu gesunden Probanden nachgewiesen werden. Dabei kann allerdings der erhöhte ET-Spiegel sowohl durch eine erhöhte Synthese als auch eine verminderte pulmonale Clearance bedingt sein [37, 38, 161]. Weitere Studien weisen erhöhte ET-Spiegel bei pulmonaler Hypoxie [141] sowie bei Adeno- und Plattenepithelzellkarzinomen [60] der Lunge nach.

Auch bei luftinduzierten Lungenembolien konnte von Wang [162] eine signifikante Erhöhung des ET-Spiegels nach Embolisation beobachtet werden.

Neben den oben genannten Erkrankungen der Lunge gibt es auch für den Formenkreis der Systemisch Inflammatorischen Reaktionen und der Sepsis Hinweise auf eine Beteiligung von ET [46, 164].

In Untersuchungen zur Pathogenese der Koronarischämie verdichten sich die Hinweise auf eine nicht unerhebliche Beteiligung der Endothelin-Peptide. Erhöhte ET-Spiegel konnten dabei sowohl im Plasma nach Myokardinfarkt als auch experimentell aus distal von ligierten Koronararterien entnommenen Proben nachgewiesen werden [11, 163]. Die hohe ET-Rezeptordichte in den Koronararterien gibt dabei weitere Hinweise auf einen bedeutsamen ET-Effekt an diesem Ort [7, 74]. Ergebnisse experimenteller Studien konnten zeigen, daß ET-1 in der Lage ist, die koronare Durchblutung um 90% zu drosseln [90]. Bei Kaninchen konnte die Ausdehnung experimentell induzierter Herzinfarkte durch ET-Antagonisierung sogar um 40% reduziert werden [63].

Trotz der Hinweise auf die Beteiligung von ET an verschiedenen Erkrankungen bedarf es weiterer Studien, um die letztliche Gewichtung dieser Beteiligung v.a. im Vergleich mit anderen Mediatorsystemen ausreichend darzustellen.

A.4. Der Plättchen-aktivierende Faktor (PAF)

Erstmalig beschrieben wurde der Plättchen-aktivierende Faktor 1972 von Benveniste, Henson und Cochrane [12] als eine Substanz mit

ausgeprägter plättchenaggregierender Wirkung, die von durch IgE stimulierten basophilen Granulozyten freigesetzt wird.

Zwischenzeitlich konnte die chemische Struktur dieses Mediators vollständig aufgeklärt [68] und eine Vielzahl seiner biologischen Wirkungen aufgezeigt werden. Gut untersucht ist z.B. seine Rolle als Mediator inflammatorischer oder thrombotischer Prozesse.

Viele der bisher dargestellten Mechanismen bei der Wirkung von PAF sind parakriner und juxtakriner Natur, d.h. PAF wird an der Oberfläche von entsprechend getriggerten Zellen präsentiert und interagiert mit anderen Zellen durch Bindung an spezifische PAF-Rezeptoren auf deren Oberfläche. Unabhängig davon existieren aber auch endokrine Pfade der Signalweitergabe durch PAF, bei denen PAF über den Blutweg zu Effektorzellen gelangt, die über die spezifischen PAF Rezeptoren verfügen [128].

A.4.1. Syntheseweg

Der PAF wird intrazellulär in vielen Zellarten des Körpers synthetisiert. Dazu gehören neben Zellen des Blutes und des RHS wie Thrombozyten, Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen auch die Endothelzellen der Blutgefäße [114, 127, 167].

Die PAF-Synthese wird wie bei der Synthese der Eicosanoide durch einen Anstieg der zytoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration getriggert. Dabei wird das Ausgangssubstrat der PAF-Synthese, ein Membranphospholipid der Klasse 1-Alkyl-2-Acyl-Phosphorylcholin, vermittelt durch eine membranständige Phospholipase A_2 , an der C_2 -Position hydrolysiert. Hierdurch entsteht zum einen Lyso-PAF als Intermediärprodukt der PAF-Synthese, zum anderen aber auch Arachidonsäure, die, wie oben beschrieben, ein Ausgangsprodukt der Eicosanoidsynthese darstellt. Somit kann durch diese Eingangsreaktion der Syntheseapparat zweier Mediatorsysteme gespeist werden.

Der zweite Schritt der PAF-Synthese wird durch eine ebenfalls membranständige Acetyltransferase katalysiert. Unter Regulation durch die Proteinkinase C wird ebenfalls Ca^{2+} -getriggert ein Acetylrest auf die freigewordene C_2 -Position transferiert. Es entsteht PAF, der dann in

unterschiedlichem Ausmaß auf intrazelluläre und extrazelluläre Kompartimente verteilt wird [109].

Neben dem hier dargestellten Syntheseweg des PAF existieren noch weitere dem PAF ähnliche Substanzen, die durch oxidative Stoffwechselprozesse aus Phospholipiden z.B. der Zellmembran entstehen und durch bestimmte Strukturelemente als Liganden des PAF-Rezeptors [128, 138] mit intrinsischer Aktivität aber auch durch andere Rezeptoren biologische Wirkungen entfalten können. Im Unterschied zur Synthese des PAF mit einer Regulation auf verschiedenen Ebenen entstehen diese PAF-ähnlichen Substanzen jedoch durch unregelmäßige chemische Reaktionen [106, 128].

A.4.2. Abbau

Der Abbau von PAF erfolgt in unterschiedlichen Zellen des Organismus wie Thrombozyten, Granulozyten, Makrophagen und Endothelzellen. Dabei wird der Mediator im Sinne einer Rekonversion über PAF-Acetylhydrolasen zu seinen Ausgangsprodukten abgebaut. Die PAF-Acetylhydrolasen sind sehr substratspezifisch und katalysieren den Abbau von PAF Ca^{2+} -unabhängig. Dadurch werden Phospholipide der Zellmembranen davor geschützt, durch diese Enzyme abgebaut zu werden [71].

A.4.3. PAF-Rezeptoren

Der PAF vermittelt seine biologischen Wirkungen über spezifische G-Protein gekoppelte Rezeptoren, die auf einer Vielzahl von Zellen nachgewiesen werden konnten. Zu diesen Zellen gehören neben Thrombozyten, Granulozyten und Endothelzellen auch glatte Gefäßmuskelzellen sowie Zellen des renalen juxtaglomerulären Apparates [109]. Auch eine Sequenzanalyse und Klonierung des Rezeptors konnte zwischenzeitlich durchgeführt werden [77].

Das Gen des PAF Rezeptors konnte auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 (1p35-p34.4) lokalisiert werden, das menschliche PAF Rezeptorgen codiert für 342 Aminosäuren [128, 142].

Die Aktivierung des PAF Rezeptors führt einerseits zu einem Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration, andererseits aber auch zu einem erhöhten Phosphatidylinositol Stoffwechsel [4]. Durch Untersuchungen an

unterschiedlich genetisch veränderten Rezeptoren konnte die Region auf dem Rezeptor eingegrenzt werden, die mit PAF interagiert [86]. Nach seiner Aktivierung wird der Rezeptor zunächst desensibilisiert. Dieser Vorgang scheint abhängig von der Proteinkinase C zu sein, die ihrerseits durch PAF aktiviert wird. Somit kommt es hier offensichtlich zu einem negativen Feedbackmechanismus, der das Ansprechen des Rezeptors auf PAF reguliert [4].

A.4.4. Biologische Wirkungen

Der PAF beeinflusst neben der von Benveniste, Henson und Cochrane [12] entdeckten ausgeprägt plättchenaggregierenden Wirkung v.a. den Metabolismus und Funktionszustand verschiedener inflammatorisch aktiver Zellen. Zu diesen Zellen gehören neben dem Monozyten-/Makrophagensystem auch Eosinophile und Neutrophile Granulozyten sowie vaskuläre Endothelzellen.

PAF ist in der Lage, teils direkt, teils auch indirekt durch Eicosanoide den Vasotonus und die Gefäßpermeabilität zu beeinflussen [17, 169].

Inflammatorisch aktive Zellen werden neben einer endokrinen Wirkkomponente von PAF mit geringer Halbwertszeit (rasche Degradation durch die PAF-Acetylhydrolase) hauptsächlich auf parakrinem und juxtakrinem Wege beeinflusst [128]. Damit es zu dieser juxtakrinen Aktivierung kommen kann, binden z.B. Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN) an gleichzeitig mit PAF auf der Oberfläche von Endothelzellen präsentierte Adhäsionsproteine wie dem P-Selectin. Die Adhäsion der PMN ermöglicht die räumliche Nähe, damit PAF, der als Antwort auf inflammatorische Stimulation z.B. auf der Endothelzelloberfläche präsentiert wird, an den PAF-Rezeptor auf der Oberfläche der PMN binden kann [98]. Durch die PAF-Rezeptoraktivierung getriggert ändern diese Zellen ihren Funktionszustand z.B. mit einem Effekt auf die Produktion und Freisetzung von Sauerstoffradikalen und proteolytischen Enzymen [26, 146] sowie der Leukozytenmigration und –adhäsion [128].

Ebenfalls auf der Ebene der vaskulären Endothelzellen greift der PAF über eine Interaktion mit dem Arachidonsäuremetabolismus in den

Stoffwechsel der Zellen ein und führt so über zelluläre Kontraktionen und Konformationsänderung des Zytoskeletts zu Permeabilitätsstörungen [69].

Eine Zusammenfassung der zellulären Wirkungen des PAF zeigt Tab. 2:

Thrombozyten <ul style="list-style-type: none"> - Degranulation - Aggregation - Ca^{2+}-Aufnahme - Thromboxan-Synthese - Bindung von Fibrinogen - Phosphatidylinositol-Bildung 	Eosinophile Granulozyten <ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis - Produktion von Leukotrienen - Produktion von O_2-Radikalen
Monozyten/Makrophagen <ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis - Aggregation - Bildung von O_2-Radikalen - Zelldifferenzierung - Ca^{2+}-Aufnahme - K^+-Ausstrom - Prostaglandin und Thromboxansynthese 	Vaskuläre Endothelzellen <ul style="list-style-type: none"> - Konformationsänderungen - Kontraktion - Aufnahme von Ca^{2+} - Adhaesion von neutrophilen Granulozyten - Freisetzung Plasminogen aktivierender Substanzen - Bildung von Phosphatidylinositol - Inhibition der Prostaglandin und Thromboxansynthese
Neutrophile Granulozyten <ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis - Aggregation - Verstärkte Zelladhaesion - Freisetzung lysosomaler Enzyme - Synthese von Leukotrienen - Produktion von HETE - Produktion von O_2-Radikalen - Ca^{2+}-Aufnahme - Bildung von Phosphatidylinositol 	Glatte Gefäßmuskelzellen <ul style="list-style-type: none"> - Prostaglandin-Synthese - Ca^{2+}-Ausstrom - Gesteigerte Phosphatidylinositol-Bildung
	T-Lymphozyten <ul style="list-style-type: none"> - Inhibition der Interleukin-2 Prod. - Inhibition der Zellproliferation

Tabelle 2: Übersicht über die wichtigsten Wirkungen von PAF auf zellulärer Ebene (Auszug aus McManus und Deavers [109]).

Die Wirkung von PAF auf die unterschiedlichen Organsysteme konnte anhand von zahlreichen Studien an isolierten Organpräparaten sowie im Ganztiersversuch zumindest teilweise dargestellt werden. Nachgewiesene Effekte von PAF zeigten sich dabei bisher neben dem respiratorischen und kardiovaskulären System auch in Leber, Niere, Haut und Gastrointestinaltrakt. Der Stoffwechsel wird ebenfalls von PAF beeinflusst. Eine Übersicht über die wichtigsten biologischen Wirkungen gibt Tabelle 3.

Kardiovaskuläres System

- systemische Hypotension
- pulmonale Hypertension
- koronare Vasokonstriktion
- Extravasation
- Arrhythmien
- negative Inotropie
- Hämokonzentration

Respiratorisches System

- Bronchokonstriktion
- Ödembildung
- Abnahme der Compliance

Blut

- Thrombozytenaggregation
- Aktivierung von Leukozyten
- Hyperfibrinolyse

Leber

- Vasokonstriktion
- Glykogenolyse
- Erhöhung des Inositol-Umsatzes

Niere

- Hypoperfusion
- Reduktion der Filtration
- Verminderung der Na-Sekretion

Gastrointestinaltrakt

- Ischämien
- Ulcera

Stoffwechsel

- Hyperglykämie
- Hypoinsulinämie
- Hypertriglyzeridämie
- Hyperglykogenese

Haut

- Erythem
- Ödembildung
- Leukozyten-Infiltration

Tabelle 3: Übersicht über die wichtigsten biologischen Wirkungen von PAF auf die verschiedenen Organsysteme [89].

A.5. Zielsetzung

Bei den pathophysiologischen Reaktionen auf Lungenembolien durch Luft handelt es sich um Reaktionen, die multimodal bedingt sind. Zwar spielt einerseits eine partielle Verlegung der Lungenstrombahn und damit ein Anstieg des pulmonalvaskulären Gefäßwiderstandes eine Rolle, andererseits kann dies aber nur ein Teil der Erklärungen für die zu beobachtenden Reaktionen auf Luftembolien sein, wenn man sich vor Augen führt, daß z.B. durch Pneumektomien eine drastische Verminderung des pulmonalen Gefäßquerschnittes geschaffen wird, die jedoch in den meisten Fällen ohne Probleme toleriert wird.

Somit liegt der Denkansatz nahe, der bei den pathophysiologischen Reaktionen unter den Bedingungen von Lungenembolien von einer zumindest partiellen Mediatorvermittlung ausgeht. Wie in der Einleitung beschrieben, spielen mit klinischer Relevanz mehrere Noxen bei der Induktion von Lungenembolien eine Rolle, wie z.B. die Luftembolie, die

Thrombembolie oder Embolien durch Fett oder Fruchtwasser, deren Effekt in Abhängigkeit vom Grad und der Ausprägung der Symptome eine zu beobachtende pulmonalarterielle Drucksteigerung, Ödembildung und Steigerung des Atemwegswiderstandes ist.

Da bei jeder dieser genannten Noxen der Mechanismus der Mediatoraktivierung und auch das resultierende Mediatormuster unterschiedlich sein kann, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit ausschließlich Luft als klinisch relevante Triggersubstanz eingesetzt und auf andere Noxen als weitere Variablen verzichtet.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bezogen auf das Organmodell der zellfrei perfundierten isolierten Kaninchenlunge diejenigen pathologischen Reaktionen auf Luftembolien darzustellen, die unabhängig waren vom Einfluss einer zusätzlichen Blutperfusion als weiterem wichtigen Faktor, der im Rahmen von embolischen Geschehnissen mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Rolle spielen wird. Desweiteren war es Ziel dieser Arbeit, unter den genannten Bedingungen den Effekt von Rezeptorantagonisten und Synthesinhibitoren verschiedener möglicher Mediatoren (Endothelin, PAF sowie Eicosanoidmediatoren) auf die ohne Antagonisierung beobachteten pathologischen Reaktionen darzustellen, dies ebenfalls ohne den Einfluss einer Blutperfusion. Darüberhinaus wurden Spiegel von Mediatoren (Endothelin-1, 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$, TXB_2 (stabile Metaboliten von Prostacyclin und TXA_2)) vor und nach Luftembolie aus dem Perfusat bestimmt, um über einen direkten Nachweis dieser Mediatoren die beobachteten Änderungen unter Rezeptorantagonisierung bzw. Synthesehemmung weiter zu untermauern.

In einer zweiten Studie, die sich dieser Arbeit anschloss, wurde das gleiche Organmodell mit 10% autologem Vollblut perfundiert und auch hier die entsprechenden Antagonisierungsversuche durchgeführt, um im Vergleich beider Arbeiten diskriminieren zu können, welche Reaktionen für dieses Organmodell blutzellvermittelt waren und welche nicht.

B. Material und Methodik

B.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden von uns Bastard-Kaninchen beiderlei Geschlechts aus der Zucht der Behring-Werke in Marburg verwendet. Die 83 Tiere mit einem Gewicht von 2,3 - 3,0 kg waren medikamentös nicht vorbehandelt. Ernährt wurden die Kaninchen mit Altromin®-Standardnahrung und Wasser ad libitum.

B.2. Präparation und Entnahme der Lunge

Um einen Zugang für intravenös gegebene Medikamente zu schaffen, wurde zunächst eine Butterfly-Kanüle in die Ohr randvene eingeführt. Nach Fixierung dieses Zugangs wurde durch Gabe von 60 mg Pentobarbital-Natrium (Nembutal®) eine noch nicht zur Ateminsuffizienz des Tieres führende Narkose erreicht, die es ermöglichte, das Tier in Rückenlage zu fixieren.

Anschließend erfolgte die Tracheotomie und Intubation des Kaninchens in Lokalanästhesie. Die mit einer Starling-Pumpe durchgeführte Beatmung mit einer Atemfrequenz von 45/min und einem Atemzugvolumen von 30 ml (zusätzliche Sauerstoffanreicherung der Beatmungsluft mit 4 l O₂/min) ermöglichte eine weitere Vertiefung der Narkose mit Pentobarbital-Natrium (Nembutal®). Zur Antikoagulation erhielten die Tiere daraufhin 1000 I.E. Heparin-Natrium (Liquemin®) pro kg Körpergewicht intravenös.

Um Zugang zum Thorax zu bekommen, wurde anschließend mittels Rippenbogenrandschnitten das Abdomen eröffnet, der ventrale Schenkel des Zwerchfells angeklemt und der intrapleurale Raum mit Hilfe einer feinen Präparierschere eröffnet. Das nun ventral und lateral vom Thorax abgetrennte Zwerchfell wurde nach kaudal verlagert und dort fixiert. Anschließend erfolgte eine mediane Sternotomie. Nach Spreizen und Fixierung der Thoraxwand wurde der Thymus reseziert und das Perikard eröffnet, um die großen Gefäße und das Herz gut darzustellen und eine lockere Anschlingung der Arteria Pulmonalis zu ermöglichen. Kurz vor der nun folgenden Katheterisierung der Arteria Pulmonalis wurde die Beatmungsluft mit CO₂ versetzt (pCO₂ = 40 mmHg), um den Gewebs-pH der nun vom Blutkreislauf entkoppelten Lunge im physiologischen Bereich zu halten. Zur Katheterisierung der Arteria Pulmonalis wurde der rechte

Ventrikel mit einer kleinen Präparierschere eröffnet, der Perfusionskatheter über die Pulmonalklappe in die Arterie vorgeschoben und dort mit Hilfe der zuvor locker gelegten Ligaturen fixiert. Daraufhin wurden retrotracheal die mediastinalen Gewebsbrücken zur Lunge abpräpariert. So konnte die Lunge unter Durchtrennung der Aorta descendens, der V. Cava inferior sowie des Oesophagus aus dem Thorax entnommen werden.

B.3. Das System der isolierten und perfundierten Kaninchenlunge

Aus drei beheizten Reservoirbehältern mit einem Fassungsvermögen von je 250 ml konnte der Krebs-Henseleit-Puffer über Dreiwegehähne an der Basis sowohl in das Zirkulationssystem geleitet, als auch in einen Auffangbehälter verworfen werden.

In dem von uns verwendeten rezirkulierenden System flossen 200 ml Perfusat kontinuierlich über einen der Reservoirbehälter wieder in das System zurück, die durch diagnostische Entnahmen entstehenden Perfusatverluste (z.B. zur pH Messung oder zur späteren Metabolitenbestimmung) wurden aus den beiden anderen Behältern ausgeglichen.

Durch eine Rollerpumpe (Masterflex 77566-10, Cole und Palmer Instruments, Chicago) gelangte das Perfusat über eine zwischengeschaltete Blasenfalle und einen Bluttransfusionsfilter (40 µm, Pall Blood Transfusion Filter, Pall Biomedizin, Dreiech), der das Einschwemmen von größeren Partikeln in die Lungenstrombahn verhindert, in die Arteria Pulmonalis. Nach der Lungenperfusion strömte das Perfusat im hier verwendeten offenen System über die Pulmonalvenen in ein weiteres beheiztes Gefäß, an dessen Basis sich das Perfusat sammelte und über das Schlauchsystem wieder zurück in den Reservoirbehälter A gelangte.

Das Lungenpräparat war über die Beatmungsschläuche und den Perfusionskatheter an einer Wägezelle (Typ U 1, Meßbereich 0-500 g, Meßgenauigkeit +/- 0,1 g) aufgehängt und so positioniert, daß es in der Mitte des beheizten Auffangbehälters mechanisch unbehindert beatmet werden konnte. Durch die Verdunstung von Perfusatflüssigkeit in dem

nach oben hin mit einem Deckel verschlossenen und beheizten Behälter wurden Feuchtkammerbedingungen geschaffen.

Das verwendete Heizsystem (Wärmepumpe HAAKE B3, Karlsruhe) ließ konstant auf 37 °C erwärmtes Aqua dest. durch die äußeren Kammern der Perfusatbehälter sowie der Feuchtkammer zirkulieren. Somit wurde sowohl die Kammer, in der die Lunge aufgehängt war, als auch das rezirkulierende Perfusat selbst auf physiologischen Temperaturen gehalten.

Der pH des Perfusats wurde während der Versuche kontinuierlich gemessen und ebenfalls im physiologischen Bereich gehalten. Dazu diente ein dem künstlichen Lungenkreislauf parallel geschalteter Nebenweg, der auf der arteriellen Seite über eine Rollerpumpe (Ismatec Labortechnik, Zürich) kontinuierlich Perfusat entnahm und den Messbehälter des verwendeten pH-Meters (pH 537, Fa. WTW, Weilheim) mit Flüssigkeit speiste. Der pH wurde dabei mit einer Glas-pH-Elektrode bestimmt. Nach der Passage des Messbereiches wurde die Perfusionsflüssigkeit in den venösen Schenkel des Systems zurückgeleitet.

Zur genaueren pH-Messung und zur Bestimmung des Säure-Base-Haushalts und des pO_2 wurden bei jeder diagnostischen Perfusatentnahme ca. 0,5 ml der Probe zur Analyse dieser Parameter verwandt (Acid Base Laboratory ABL2, Fa. Radiometer, Kopenhagen) und die Ergebnisse im Versuchsprotokoll dokumentiert.

Modell der isolierten Kaninchenlunge

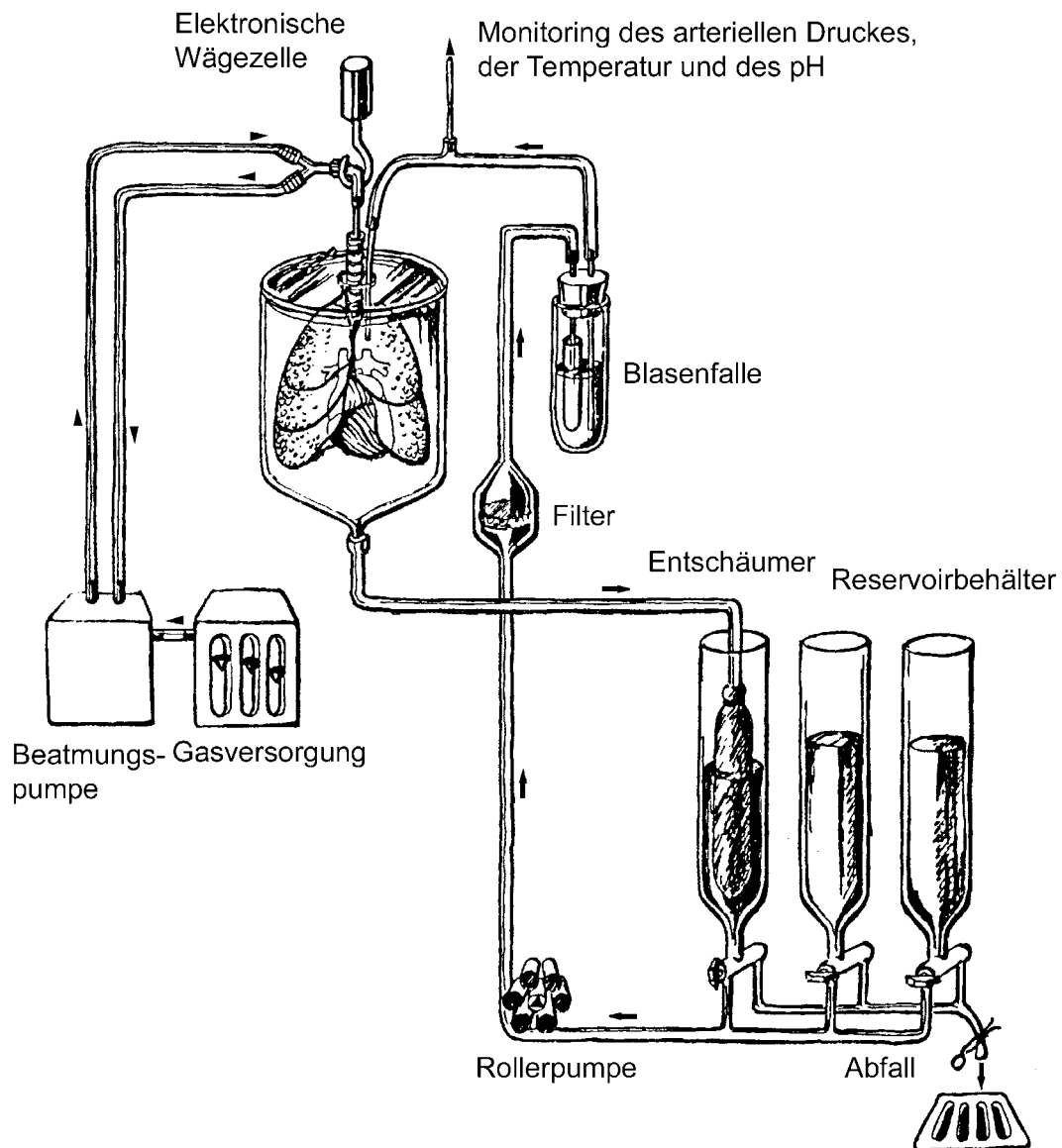


Abb. 2: Das Modell der isolierten und perfundierten Kaninchenlunge (offenes System): Aus den Reservoirbehältern gelangte das Perfusat über eine Rollerpumpe, eine zwischengeschaltete Blasenfalle und einen Bluttransfusionsfilter in die Arteria pulmonalis. Nach Passage der Lungenstrombahn wurde der aus den Lungenvenen austretende Krebs-Henseleit Puffer in einem beheizten Gefäß, in dem die isolierte Lunge an einer Wägezelle fixiert aufgehängt war, aufgefangen und gelangte so zurück in den Reservoirbehälter. Die Beatmung der Lunge erfolgte dabei mit einer Starling-Pumpe, inspiratorische CO_2 - und O_2 -Konzentrationen waren variierbar. Während der Versuche wurden kontinuierlich

Gewichtsänderungen der Lunge, der pulmonalarterielle Druck (PAP) sowie der Perfusat-pH gemessen und auf einem Mehrkanalschreiber protokolliert.

B.4. Beatmungsmodus

Die Beatmung der Lunge erfolgte mit Hilfe einer Starling-Pumpe (Fa. Braun, Melsungen). Dabei wurde während der Inspiration die Lunge über einen zuleitenden Schlauch mit Raumluft beatmet, dem variabel O₂ oder CO₂ zugesetzt werden konnte. In der Ausatemungsphase wurden die Atemgase über einen weiteren Schlauch abgeleitet, eine Rezirkulation erfolgte dabei nicht.

Durch die manuelle Veränderung der Eintauchtiefe des Expirationsschlauches in einem Wasserbehälter konnte ein positiv endexpiratorischer Beatmungsdruck (PEEP) aufgebaut und reguliert werden.

B.4.1. Beatmungsparameter

Die Starling Pumpe war bei einem Inspirations/Expirations- verhältnis von 1:1 auf eine konstante Beatmungsfrequenz (AF) von 45/min und ein Atemzugvolumen (AZV) von 30 ml eingestellt.

Während der Präparation wurde die zur Beatmung verwendete Raumluft mit 4 l O₂ /min versetzt, um eine ausreichende O₂-Sättigung des Blutes zu gewährleisten.

Kurz vor der Katheterisierung der A. Pulmonalis wurde diese O₂-Substitution beendet. Statt dessen wurde die nun vom Blutkreislauf entkoppelte Lunge mit einem Beatmungsgemisch aus Raumluft und CO₂ (pCO₂ ca. 40 mmHg) beatmet, um den pH des Perfusats und damit den Gewebe-pH der Lunge auf physiologischen Werten zu halten. Veränderungen des Perfusat-pHs konnte durch Regulation des pCO₂ in den Beatmungsgasen begegnet werden.

Während wir für die Dauer der Präparation auf die Beatmung mit PEEP verzichteten, wurde nach der Organentnahme ein konstanter PEEP von ca. 1 cm Wassersäule angelegt, um Atelektasenbildung im weiteren Versuchsverlauf zu verhindern.

B.5. Monitoring der Lungenmasse und des pulmonalarteriellen Druckes (PAP).

Während der Versuche wurde die Änderung der Lungenmasse (Δg) über eine mit einem Meßverstärker (KWS 3073, Hottinger-Baldwin Meßtechnik, Gießen) gekoppelte elektronische Wägezelle (Typ U 1, Meßbereich 0-500 g, Meßgenauigkeit $\pm 0,1g$), an der die Lunge beweglich aufgehängt war, registriert.

Der pulmonalarterielle Druck wurde über einen in der Pulmonalkatheterspitze endenden Schlauch (Innendurchmesser 0,5 mm), der mit der Meßeinheit eines piezoelektrischen Transducers (Combitrans® Monitoring Set, Fa. Braun, Melsungen) verbunden war, gemessen. Diese Meßeinheit wurde vor Versuchsbeginn immer auf dem Niveau der Pulmonalkatheterspitze befestigt.

Sowohl die Massenänderung (Δg) als auch der pulmonalarterielle Druck (PAP) wurden dabei kontinuierlich auf einem Mehrkanalschreiber (R50, Fa. Rikadenki) protokolliert.

B.6. Perfusionsmodus

Während die Katheterisierung der Arteria pulmonalis unter einem minimal gehaltenen Perfusionsflow von ca. 10 ml/min erfolgte, wurde nach der Fixation des Lungenpräparates an der Wägezelle in einem ersten Schritt die Durchflußrate auf 40 ml/min gesteigert.

Um Blutbestandteile so weit wie möglich aus der Lungenstrombahn zu entfernen, wurde die Lunge zunächst nicht rezirkulierend perfundiert, sondern mit ca. 200 ml Perfusat aus den Reservoirbehältern B und C freigespült. Dieses Perfusat wurde nach der Lungenpassage über den Reservoirbehälter A in einen Auffangkanister geleitet und verworfen.

Anschließend wurde der Kreislauf geschlossen und die Lunge mit einem Gesamtvolumen von ca. 200 ml Krebs-Henseleit-Puffer rezirkulierend perfundiert.

Nun wurde die Durchflußrate alle fünf Minuten um 40 ml/min auf einen endgültigen Flow von 200 ml/min gesteigert, der der physiologischen Lungendurchflußrate beim Kaninchen entspricht.

Nach Abschluss der Flowsteigerung wurde ein Perfusatwechsel durchgeführt, um während der Flowsteigerung in die Lungenstrombahn

gelangte Mediatoren und ausgeschwemmte Zellen aus dem System zu entfernen.

Die nun folgende 20-minütige Steady-State-Phase diene uns zur Kontrolle, daß das Versuchsmodell unter den jetzt konstanten Bedingungen eines Perfusionsflows von 200 ml/min, einer Beatmung mit den oben beschriebenen Beatmungsparametern und bei im physiologischen Bereich gehaltenen Gewebs pH-Werten nicht mit starken Schwankungen des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) bzw. mit Flüssigkeitseinlagerungen reagiert, was für eine Schädigung der Lunge während der Präparation sprechen würde.

Ausschlußkriterien während der Steady State Phase für die Aufnahme des einzelnen Versuches in die Studie waren pulmonalarterielle Drücke von >10 mmHg oder eine Massenzunahme der Lunge während dieser Zeit. Der Mittelwert der Ausgangsdrücke lag bei den in die Studie aufgenommenen Versuchen bei 6,3 mmHg, bei einer Standardabweichung von 1,2 mm Hg.

Zur Zeit der Flowsteigerung und während der Steady State Phase wurden regelmäßig Perfusatproben aus dem System entnommen, in denen mit dem Säure-Basen-Analysator (ABL2, Fa. Radiometer, Kopenhagen) pH, pCO₂ und pO₂ bestimmt wurden.

Durch Regulation des pCO₂ in den Beatmungsgasen wurde auf diese Weise ein physiologischer pH-Wert zwischen 7,3 und 7,4 eingestellt.

B.7. Perfusionsmedium

Als Perfusionsmedium verwendeten wir **Krebs-Henseleit-HES 6,5% Pufferlösung** mit folgender Zusammensetzung:

100 Volumenanteile enthalten:

65 Volumenanteile HAES-Steril 10% (Fresenius AG, Bad Homburg)

20 Volumenanteile "Elektrolytlösung A" (Zusammensetzung s. unten)

12,5 Volumenanteile NaHCO₃ 0,9%

2,5 Volumenanteile Glucose 10% Lösung

Zusammensetzung der "Elektrolytlösung A":

NaCl	7,156 g/l
CaCl ₂	1,750 g/l
KH ₂ PO ₄	0,750 g/l
MgCl ₂	1,350 g/l
KCl	1,262 g/l

Auf das Gesamtvolumen des KHHB-Puffers umgerechnet ergeben sich folgende Elektrolytkonzentrationen:

Na ⁺	138 mmol/l
Cl ⁻	10,8 mmol/l
K ⁺	4,50 mmol/l
Ca ⁺⁺	2,38 mmol/l
Mg ⁺⁺	1,33 mmol/l
PO ₄ ⁻	1,10 mmol/l

Die Einstellung des Perfusat pH erfolgte durch Zugabe von NaHCO₃ 0,9% Lösung oder 1 molarer HCl auf Werte zwischen 7,3 und 7,4.

B.8. Perfusatsprobenentnahme und -verarbeitung.

Zu definierten Zeiten wurden jeweils 5 ml Perfusat aus dem der Lunge nachgeschalteten Systemschenkel entnommen.

Die Entnahmezeitpunkte waren jeweils 2 Minuten vor der Induktion der Lungenembolie, sowie 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach der Induktion.

Ca. 0,5 ml der Perfusatsproben wurden zur Bestimmung von pH, pCO₂ und pO₂ mit dem Säure-Basen-Analysator (ABL2, Fa. Radiometer, Kopenhagen) verwendet.

Die restlichen 4,5 ml wurden zentrifugiert (10 min bei 3000 U/min und 23 °C) und der Überstand mittels einer Eppendorf-Pipette in Portionen zu je 1 ml in vier Eppendorf-Gefäße verbracht. Dadurch wurden evtl. in den Proben noch vorhandene Erythrozyten entfernt.

Die Eppendorf-Gefäße mit den Proben wurden anschließend bei $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren und gelagert.

B.9. Systemstabilität

Zur Überprüfung der Systemstabilität und zum Ausschluß einer Eigentriggerung des Systems durch rezirkulierendes Perfusat wurden sechs Versuche durchgeführt, bei denen weder eine Antagonisierung noch eine Stimulation erfolgte. Über den gewählten Versuchszeitraum von 120 min zeigte sich in diesen Leerversuchen weder eine signifikante Änderung des pulmonalarteriellen Druckes noch eine Änderung der Organmasse im Vergleich zur Steady State Phase, so daß eine Stabilität des Versuchsmodells gezeigt werden und eine Eigentriggerung durch das rezirkulierende Perfusat ausgeschlossen werden konnte.

B.10. Mediatoranalyse

B.10.1. Endothelinbestimmung

Aus den bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagerten Perfusatsproben wurde ET-1 mit einem kommerziell erhältlichen ELISA Testkit bestimmt. Die prozentuale Kreuzreaktionsrate beträgt bei diesem Immunoassay 100% mit ET-1, bei ET-2 liegt sie bei $>100\%$. Die Kreuzreaktionen mit ET-3 ($<0,001\%$), big ET-1 (0,07%) und Sarafotoxin 6b ($<0,0006\%$) sind vernachlässigbar klein.

B.10.2. Bestimmung von TXB_2 und 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ aus dem rezirkulierenden Perfusat.

Die stabilen Hydrolyseprodukte von Thromboxan und Prostacyclin, TXB_2 und 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$, wurden über ein Radioimmunoassay bestimmt (Methode nach Peskar [126]).

Die Kreuzreaktionen des TXB_2 -Antiserums mit Prostaglandin D_2 betrug 2,7% sowie 0,05% mit 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$, PGE_2 , PGE_1 , $\text{PGF}_{1\alpha}$, 13,14-dihydro-15-keto PGE_2 sowie 13,14-dihydro-15-keto $\text{PGE}_{2\alpha}$.

Die Kreuzreaktionsrate des 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ -Antiserums betrug 0,05% mit TXB_2 , 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$, PGE_2 , PGE_1 , $\text{PGF}_{1\alpha}$, 13,14-dihydro-15-keto PGE_2 sowie 13,14-dihydro-15-keto $\text{PGE}_{2\alpha}$.

B.11. Verwendete Pharmaka

Diclofenac-Natrium: Cyclooxygenaseblocker (Voltaren®) der Fa. Ciba-Geigy (Wehr, Deutschland). Verwendet wurde eine Stammlösung mit einer Konzentration von 2mg/ml. Durch die Gabe von 0,5 ml Stammlösung/100ml Perfusat ergibt sich somit eine Endkonzentration von 10µg/ml im zirkulierenden Medium.

BQ123: ET_A-Rezeptorantagonist (MG 610.7) mit der chemischen Bezeichnung [cyclo(D-Asp-Pro-D-Val-Leu-D-Prp)] der Fa. Alexis (Läufelfingen, Schweiz). Produktnr. 155-004-P005. Die Gabe von 1 ml einer 10⁻⁴ molaren Stammlösung/100 ml Perfusat ergab eine Endkonzentration von 10⁻⁶ Mol/l in der Perfusionslösung.

BQ788: ET_B-Rezeptorantagonist (MG 663.7) [N-cis-2,6-dimethyl piperidinocarbonyl-L-gamma-methyllaucyl-D-1-methoxycarbonyl-tryptophanyl-D- norleucine] der Fa. Alexis (Läufelfingen, Schweiz). Es wurden 1 ml einer 10⁻⁵ molaren Stammlösung/100 ml Perfusat gegeben, so daß sich eine Endkonzentration von 10⁻⁷ mol/l in der Perfusionslösung einstellen konnte.

WEB2086®: Spezifischer Rezeptorantagonist des Plättchenaktivierenden Faktors (PAF) (MG 455,9) mit der chemischen Bezeichnung 3-[4-(2-Chlorphenyl)-9-methyl-6H-thieno [3,2-f][1,2,4] triazolo-[4,3-a] [1,4]-diazepin-2-yl]-1-(4-morpholinyl)-1-propanon der Firma Böhlinger Ingelheim. Zur PAF-Antagonisierung wurde 1ml einer 10⁻² molaren Stammlösung auf 100 ml Perfusat gegeben. Somit wurde mit einer Endkonzentration von 10⁻⁴ Mol/l perfundiert.

B.12. Begründung der Antagonistendosierungen

Die gewählte Konzentration von *Diclofenac* (10 µg/ml) im Perfusat basiert auf Dosisfindungsstudien unserer Arbeitsgruppe am gleichen Modell, die zeigen konnten, daß diese Konzentration des Cyclooxygenaseblockers

nach Stimulation des Arachidonsäuremetabolismus in der Lage war, den Cyclooxygenaseweg komplett zu blockieren [unpublizierte Daten].

Die Konzentration des *ET_A-Rezeptorantagonisten BQ123* im Rahmen der vorliegenden Studie ist begründet durch Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe am gleichen Modell [unveröffentlichte Daten], die eine komplette Inhibition ET-1 vermittelter Effekte (in 10^{-6} - 10^{-9} molare Konzentration) durch die gewählte Konzentration dieses Rezeptorantagonisten zeigen konnte, sowie durch 1992 veröffentlichte Untersuchungen von Ihara [83, 133, 134].

Die verwendete Konzentration des *ET_B-Rezeptorantagonisten BQ788* (10^{-7} molar) basiert auf Publikationen von Ishikawa [87], Fukuroda [55] und Nakamichi [116].

Der in der vorliegenden Studie verwendeten Konzentration des *PAF-Antagonisten WEB 2086* liegen zwei Veröffentlichungen von Casals-Stenzel (1987) [23, 24] sowie eine Publikation von Hwang (1985) [81] zu diesem Thema zugrunde.

B.13. Statistische Auswertung

Für alle Meßzeitpunkte wurden für die einzelnen Versuchsgruppen Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) sowie Standardfehler (SEm) berechnet und graphisch dargestellt.

Für die statistischen Berechnungen wurde das Statistikprogramm Statgraphics plus für Windows verwendet.

Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen wurden über eine einfaktorielle Varianzanalyse (one-way ANOVA) bestimmt und die Differenzen mit Hilfe des Multiple Range Tests nach Scheffé auf ihre Signifikanz überprüft. Werte von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet.

C. Ergebnisse

C.1. Vorversuche

C.1.1. Embolievolumina

Vorversuche wurden mit dem Ziel durchgeführt, das Luftvolumen zu bestimmen, das reproduzierbar eine signifikante Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes zu induzieren vermochte.

Durchgeführt wurde zunächst jeweils ein Versuch mit 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml und 1,5 ml Luft.

Die Injektion eines Luftvolumens von 0,5 ml führte nur zu einem geringen Anstieg des PAP von 6,8 auf 12,7 mmHg. Im weiteren Verlauf des Versuches sank der Druck rasch wieder auf Werte von ca. 10 mmHg.

Unter der Gabe von 0,75 ml Luft kam es zu einem sofortigen steilen Anstieg der Druckkurve mit einem Δ PAP von ca. 25 mmHg. Im Anschluß an dieses eingipflige Maximum sank der PAP anfänglich rasch, später im Versuch langsamer, um nach 120 Minuten annähernd wieder den Ausgangswert zu erreichen.

Die Versuche mit 1 und 1,5 ml Luft führten hingegen zu einem fulminanten Anstieg des PAP auf Werte von ca. 60 mmHg. Innerhalb weniger Minuten lagerten die Lungenpräparate so stark an Flüssigkeit ein, daß das alveoläre Lungenödem schließlich zum Versuchsabbruch zwang.

Auf diesen Beobachtungen basierend wurden sechs Versuche mit einem Embolusvolumen von 0,75 ml Luft durchgeführt und entsprechend dieser Vorversuche auch für die weiteren Untersuchungen ein Volumen von 0,75 ml Luft gewählt.

C.2. Kontrollgruppe (Gruppe A)

C.2.1. Verhalten des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) sowie Änderung der Masse des isolierten Lungenpräparates nach einer Bolusgabe von 0,75 ml Luft

Um einen Kontrollgruppenvergleich zu ermöglichen, wurde wie bereits oben angesprochen anhand von n=6 isolierten und perfundierten Lungenpräparaten das Verhalten des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) und der Massenänderung (Δ G) nach Gabe von Raumluft aufgezeichnet

und analysiert. Eine medikamentöse Antagonisierung wurde dabei unterlassen.

Die Applikation der Raumluft erfolgte nach einer 20minütigen Steady-State-Phase als Bolus von 0,75 ml in den der Pulmonalarterie vorgeschalteten Katheter. Während der Versuche wurde der pH-Wert des Perfusats durch Regulation des $p\text{CO}_2$ in der Atemluft konstant gehalten, so daß diese Größe keinen Einfluß auf die u.g. Veränderungen nahm.

C.2.1.1. Veränderung des pulmonalarteriellen Druckes

Bei einem mittleren Ausgangsdruck von $7,5 \pm 0,2$ (SE) mmHg kam es sofort nach der Luftinjektion zu einem raschen, eingipfligen Anstieg des PAP, der nach 2,5 min ein Maximum von $24,6 \pm 1,7$ mmHg (SE) erreichte. Daran anschließend war eine rasche Reduktion des PAP zu verzeichnen, der sich am Versuchsende nach $t=120$ min asymptotisch wieder seinem Ausgangswert näherte (Abb. 3).

C.2.1.2. Massenänderung des Lungenpräparates (ΔG)

Hier zeigte sich nach der Injektion von Luft eine sofortige Reaktion in Form einer Massenverminderung mit einem Minimum von $2,1 \pm 0,4$ g nach 2,5 min, die als Ausdruck der pulmonalen Vasokonstriktion zu betrachten ist. In der Folge nahm die Masse des Präparates nur geringfügig zu. Es wurde erst nach 90 Minuten wieder das Ausgangsniveau erreicht. Zu einer deutlichen, am Versuchsende nicht mehr linearen Zunahme der Organmasse kam es im Bereich von 90-120 Minuten, die schließlich zu einer mittleren Massenänderung von $+8,3 \pm 2,3$ g ($t=120$ min) führte (Abb. 3).

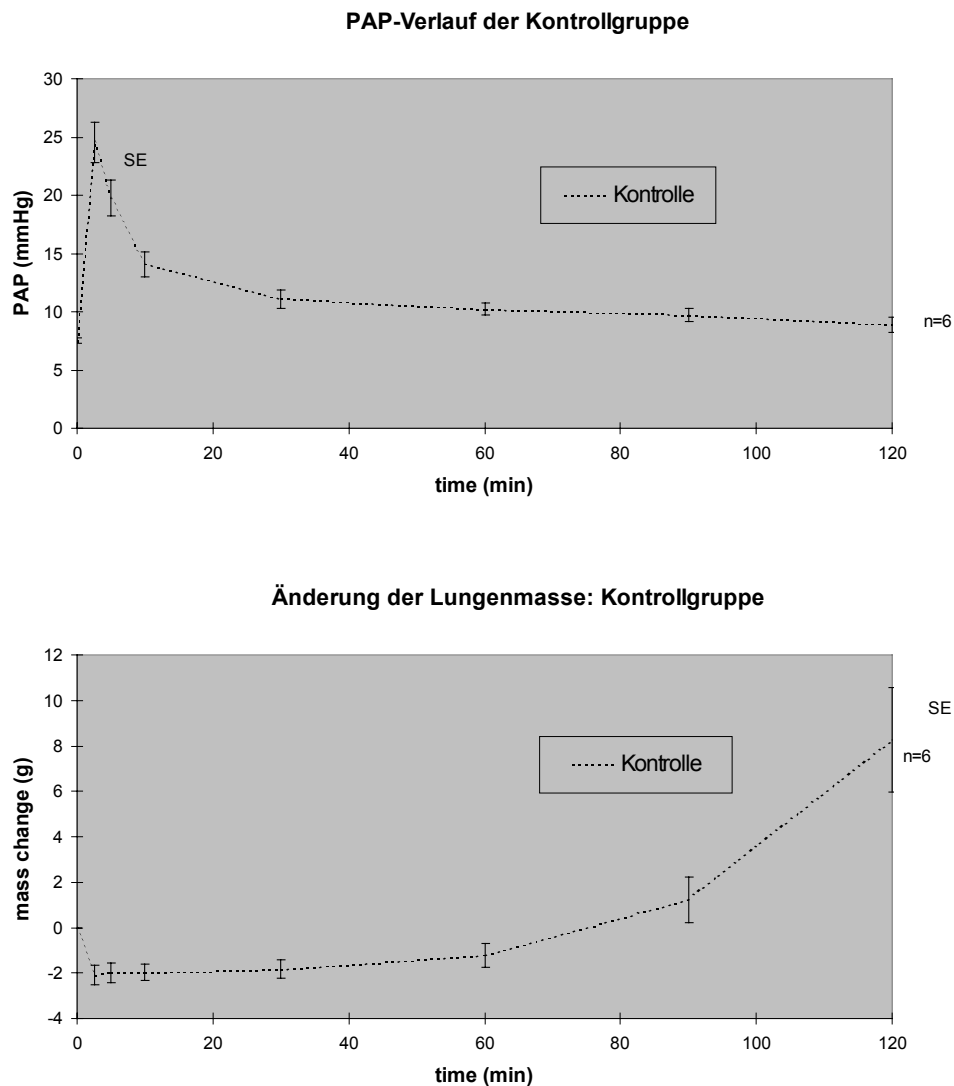


Abb. 3: PAP-Verlauf und Änderung der Masse des isolierten Lungenpräparates nach Bolusgabe von 0,75 ml Raumluft während des Versuchsverlaufes von 120 min.

C.3. Versuche mit medikamentöser Vorbehandlung

C.3.1. Gruppe B: Luftembolie mit 0,75 ml Raumluft unter Vorbehandlung mit dem Cyclooxygenaseblocker Diclofenac

Bei sechs isolierten und perfundierten Lungenpräparaten wurden 20 Minuten vor der Gabe von 0,75 ml Luft 2 mg des

Cyclooxygenasehemmers Diclofenac (Voltaren®) zur intravenösen Anwendung in das Perfusionssystem appliziert, so daß eine Endkonzentration von 10 µg Diclofenac/ml Perfusat vorlag.

C.3.1.1. Verhalten des PAP unter Cyclooxygenasehemmung

Nach der Bolusgabe von 0,75 ml Luft in die Pulmonalarterie kam es auch bei dieser Versuchsserie zu einem sofortigen Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes, der nach 2,5 min seinen Höchstwert erreichte.

Dieser Gipfel lag dabei mit $15,3 \pm 1,1$ mmHg statistisch signifikant ($p < 0,01$) unter dem bei der Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt beobachteten Wert. Auch nach 5 Minuten war dieser Unterschied ($p < 0,01$) noch nachweisbar.

Die Druckverlaufskurve unter Vorbehandlung mit Diclofenac ähnelt der der Kontrollgruppe:

Nach dem oben beschriebenen eingipfligen Maximum bei $t = 2,5$ min war ein rascher Druckabfall zu verzeichnen. Im Unterschied zur Kontrollgruppe wurde allerdings in dieser Gruppe bereits nach 30 Minuten wieder der Ausgangsdruck erreicht (Abb. 4).

C.3.1.2. Änderung der Lungenmasse unter Antagonisierung mit Diclofenac

Im Hinblick auf den Änderung der Organmasse der isolierten Lungenpräparate unter Vorbehandlung mit Diclofenac zeigte sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe kein statistisch signifikanter Unterschied. Auch in dieser Versuchsreihe fiel die Organmasse zunächst synchron zum Druckanstieg des PAP und erreichte nach $t = 2,5$ min ein Minimum ($\Delta G = -1,0 \pm 0,1$ g). Nach leichtem Anstieg auf ein Niveau, das noch unterhalb des Ausgangswertes lag, blieb die Masse die ersten 70 Minuten konstant, um dann am Versuchsende im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch nicht signifikant auf einen Durchschnittswert von $\Delta G = 4,1 \pm 1,6$ g anzusteigen (Abb. 4).

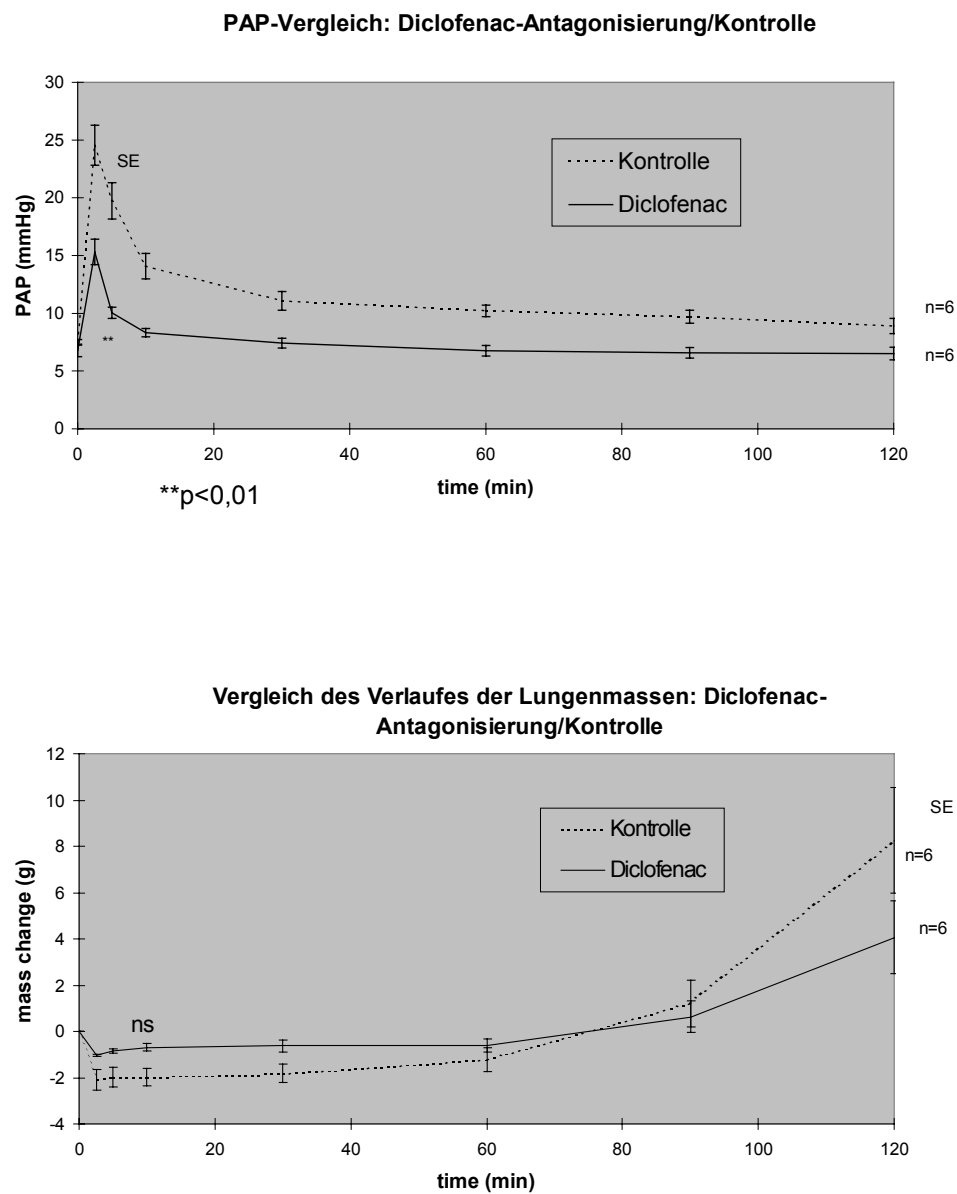


Abb. 4: Organmassen und PAP-Veränderungen bei Kontroll- und Diclofenac-Gruppe

C.3.2. Gruppe C: Luftembolie nach Vorbehandlung mit dem Endothelin_A-Rezeptorantagonisten BQ123

In dieser Gruppe von n=6 isolierten und perfundierten Lungenpräparaten wurden 20 Minuten vor Embolieinduktion 2 ml einer 10^{-4} molaren BQ123 Lösung in die Perfusatlösung gegeben (Endkonzentration 10^{-6} M).

C.3.2.1. Veränderung des PAP nach Antagonisierung mit BQ123

Auch unter Antagonisierung mit dem ET_A-Rezeptorantagonisten BQ123 stieg der PAP sofort nach der Luftinjektion auf einen Wert von $26,3 \pm 2,4$ mmHg, um in Folge rasch wieder zu sinken. Die PAP-Werte unterschieden sich dabei weder zu Beginn noch im Verlauf des Versuches statistisch signifikant von denen der Kontrollgruppe (Abb 5).

C.3.2.2. Änderung der Lungenmasse unter BQ123 Applikation

Nicht signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe war auch bei diesen Versuchen zunächst eine Reduktion der Organmasse der perfundierten Lungenpräparate zu beobachten ($-2,0 \pm 0,4$ g fünf Minuten nach Embolieinduktion).

Im weiteren Verlauf zeigte sich eine langsame, gegen Ende des Versuches beschleunigte Massenzunahme, die nach 120 Minuten im Mittel $5,0 \pm 1,6$ g erreichte.

Unter Vorbehandlung mit BQ123 war somit auch hinsichtlich der Massenänderung kein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisbar (Abb. 5).

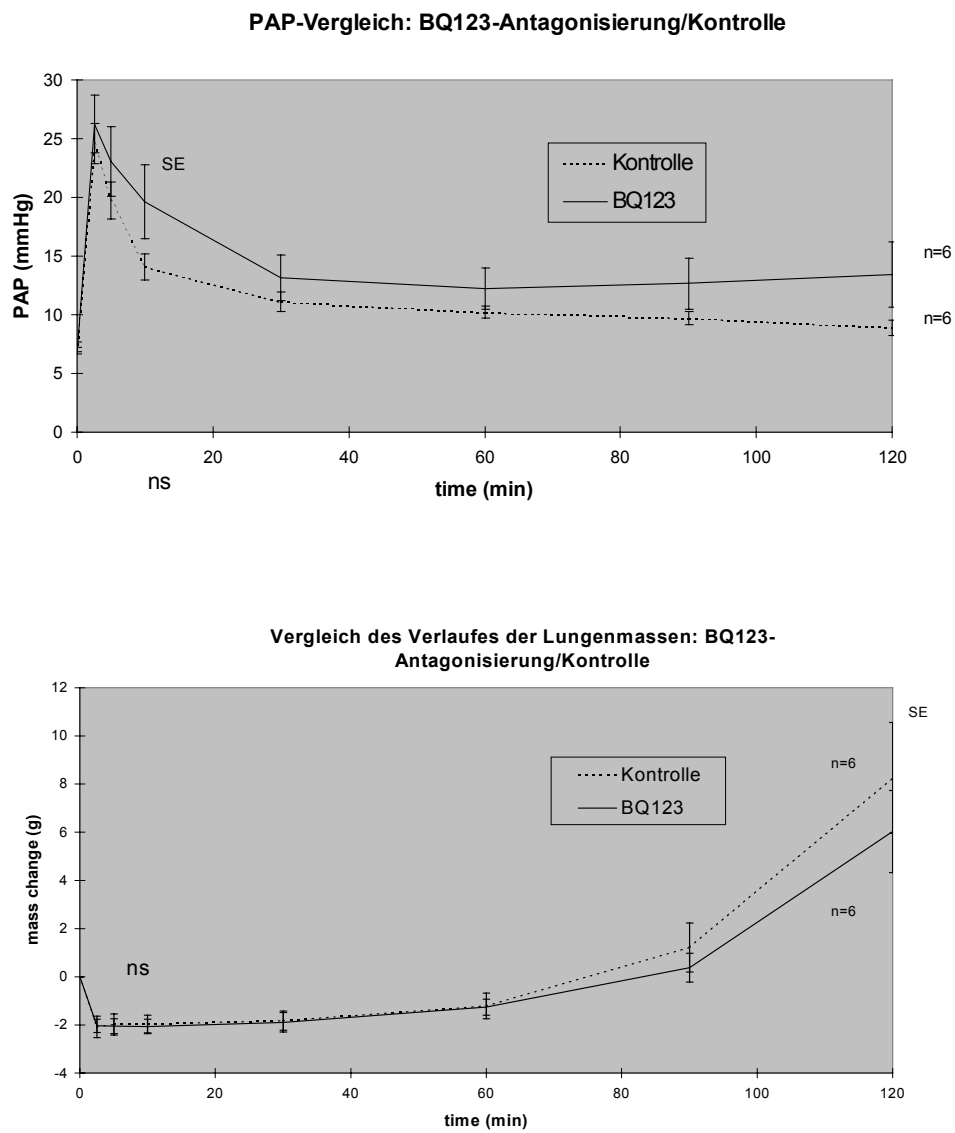


Abb. 5: Vergleich der mit BQ123 vorbehandelten Gruppe mit der Kontrollgruppe im Hinblick auf PAP und ΔG .

C.3.3. Gruppe D: Luftembolie unter medikamentöser Vorbehandlung mit dem PAF-Antagonisten WEB 2086

Bei dieser Versuchsgruppe (n=6) wurden 20 Minuten vor Embolieinduktion 2 ml einer 10^{-2} molaren Lösung des PAF-Antagonisten WEB 2086 in das Perfusionssystem appliziert, daraus resultierte eine Konzentration von 10^{-4} Mol/l im Perfusat.

Auch hier wurde zur Induktion der Lungenembolien 0,75 ml Luft verwendet.

C.3.3.1. Verhalten des PAP unter Vorbehandlung mit WEB2086

Unter medikamentöser Vorbehandlung mit WEB2086 kam es bei einem mittleren Ausgangsdruck von $6,2 \pm 0,6$ mmHg zu einem sofortigen Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks mit einem eingipfligen Maximum von $21,8 \pm 2,4$ mmHg (SE) 2,5 Minuten nach der Luftinjektion. In der Folge sank der Druck wieder, um sich gegen Versuchsende dem Ausgangsdruck anzunähern.

Sowohl bei der Höhe des initialen Druckgipfels als auch im weiteren Verlauf der PAP-Druckkurve zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (Abb 6).

C.3.3.2. Änderung der Masse des Lungenpräparates unter Vorbehandlung mit WEB2086

Wie bei allen vorhergehenden Serien zeigte sich auch hier nach der Embolisation parallel zum Anstieg des PAP zunächst eine Reduktion der Lungemasse, die nach 5 Minuten ein Minimum von $-2,4 \pm 0,2$ g (SE) erreichte.

Die Versuche dieser Serie zeichneten sich jedoch durch eine im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich geringere Veränderung der Organmasse aus, wobei v.a. im letzten Versuchsdrittel der in der Kontrollgruppe zu erkennende deutliche Massenzunahme des Präparates ausblieb. Bei $t=120$ Minuten zeigte sich mit einem durchschnittlichen Massenzuwachs von $0,9 \pm 0,9$ g (SE) somit ein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($p<0,05$) (Abb 6).

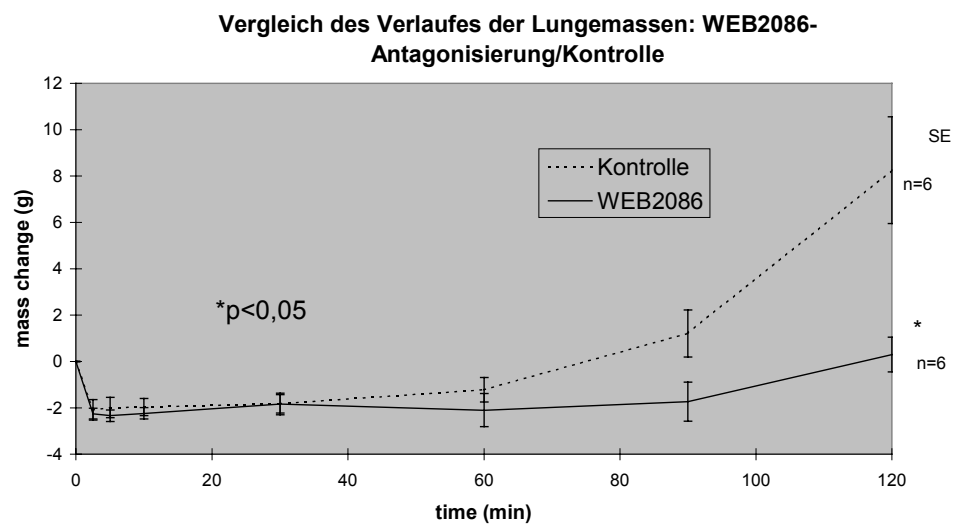
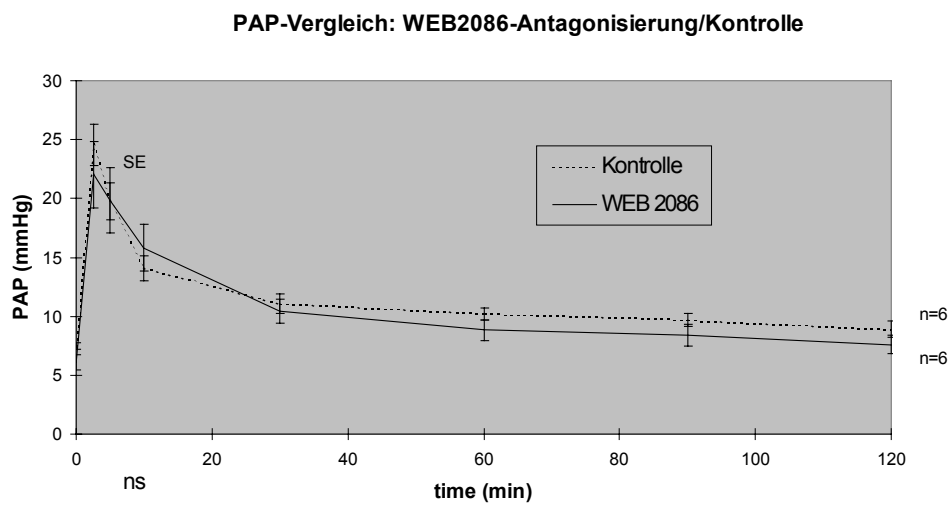


Abb. 6: PAP- und Massenänderung der mit WEB 2086 vorbehandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe

C.3.4. Gruppe E: Luftembolie unter Vorbehandlung mit dem Endothelin_B-Rezeptorantagonisten BQ 788

Bei den Versuchen dieser Gruppe (n=5) wurden mit einem Abstand von 20 Minuten vor der Injektion von 0,75 ml Luft 2ml einer 10^{-5} molaren Lösung des spezifischen ET_B-Rezeptorantagonisten BQ788 in das Perfusat verbracht (Endkonzentration 10^{-7} Mol/l).

C.3.4.1. Verhalten des PAP unter Antagonisierung mit BQ788

Bei einem Ausgangsdruck von $5,6 \pm 0,7$ mmHg (SE) kam es auch unter der Antagonisierung der ET_B-Rezeptoren nach der Embolieinduktion durch 0,75 ml Luft zu einem sofortigen Anstieg des PAP. Dabei zeigte sich ein Maximum von $25,9 \pm 3,7$ mmHg nach 2,5 min.

Im Anschluß fiel der PAP innerhalb von 30 min wieder auf ein Niveau von ca. 11 mmHg, das im weiteren Verlauf nur noch geringgradig unterschritten wurde ($10,4 \pm 1,5$ mmHg nach 120 min).

Insgesamt zeigte sich bezüglich des Verlaufes des PAP dieser Gruppe im statistischen Vergleich mit der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied (Abb. 7)

C.3.4.2. Änderung der Masse des Lungenpräparates unter Vorbehandlung mit BQ 788

Wie bei den bereits beschriebenen Serien kam es während der initialen Drucksteigerung zunächst zu einer Reduktion der Organmasse. Das Minimum von $-2,9 \pm 0,3$ g war nach 2,5 Minuten erreicht. Anschließend hielt sich die Organmasse bis ca. 90 Minuten unterhalb des Ausgangsniveaus, um gegen Ende des Versuches relativ rasch anzusteigen ($3,8 \pm 1,6$ g nach 120 min).

Bei der statistischen Auswertung zeigten sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede (Abb 7).

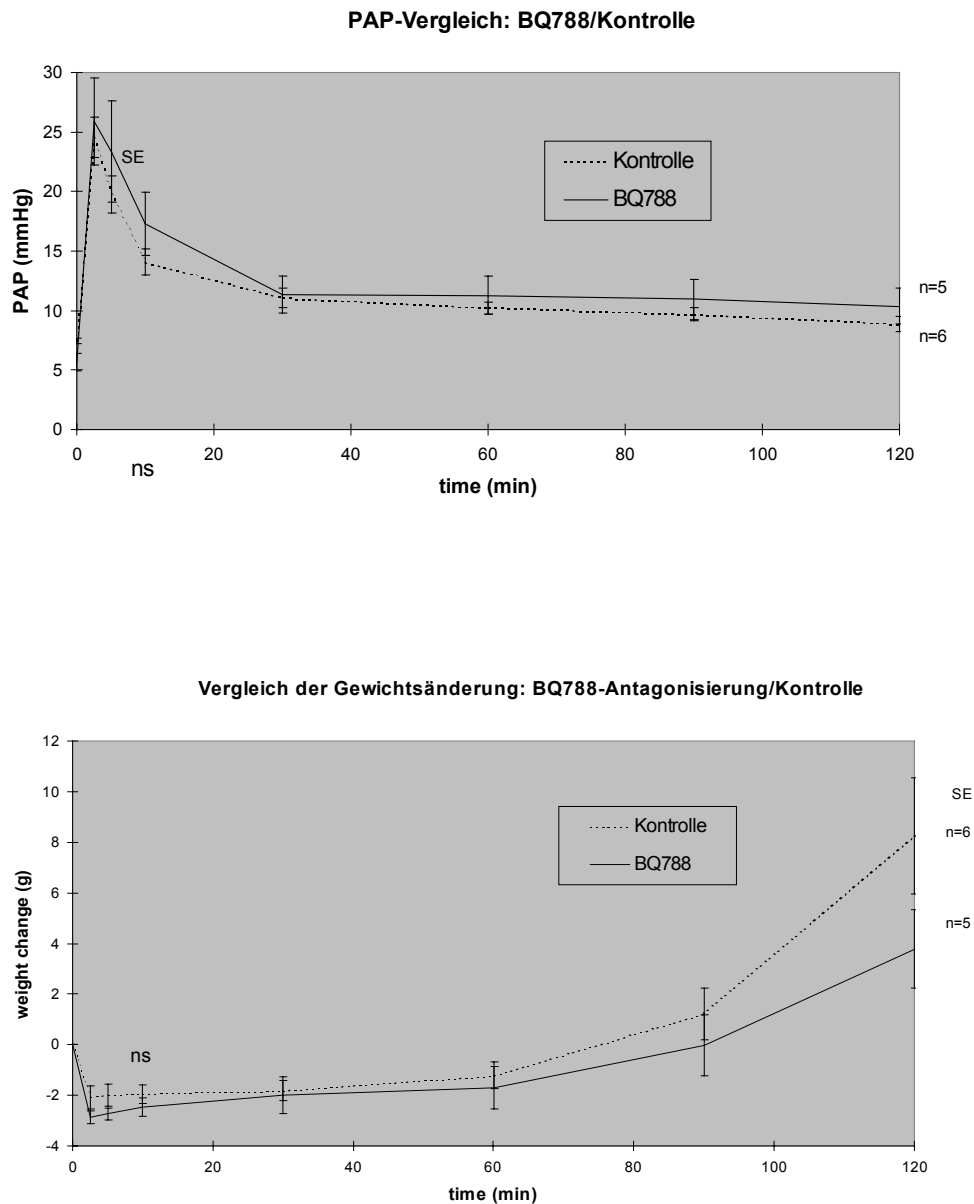


Abb. 7: PAP- und Massenänderung der mit BQ788 antagonisierten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe.

C.3.5. Bestimmung von Endothelin-Spiegeln aus den Perfusatproben nach Luftembolie

Neben den beschriebenen funktionellen Untersuchungen an den isolierten und perfundierten Kaninchenlungen wurden in dieser Studie mittels eines

handelsüblichen ET-spezifischen ELISA zusätzlich die Perfusatkonzentrationen der Endotheline vor und nach Embolieinduktion bestimmt.

Unter der Vorstellung, durch massivere Lungenembolien höhere ET-Spiegel im Perfusat zu erreichen, wurden bei diesen Versuchen statt der bisher verwendeten 0,75 ml Luft ein Volumen von 1ml (n=2) bzw. 1,5 ml (n=1) Raumluft zur Embolisation verwandt.

Bei der Bestimmung der ET-Spiegel aus den Perfusatproben konnten dabei aber weder vor noch nach der Embolisation messbare ET-Konzentrationen nachgewiesen werden.

C.3.6. Bestimmung von TXB_2 und 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ aus dem Perfusat vor und nach Embolieinduktion

Die Spiegel von TXB_2 und 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ als stabile Metaboliten der Eicosanoide TXA_2 und PGI_2 wurden vor und fünf Minuten nach Embolieinduktion mit 0,75 ml Luft aus dem Perfusat bestimmt.

Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) der gemessenen TXB_2 -Spiegel vor und nach Embolieinduktion (n=6) (Tabelle 4).

	TXB_2 (pg/ml)	6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ (pg/ml)
Vor Embolieinduktion	120 +/- 115	223 +/- 110
5 min nach Embolieinduktion	980 +/- 367 (*)	525 +/- 277

Tabelle 4: TXB_2 und 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ -Spiegel vor und fünf Minuten nach Embolieinduktion mit 0,75 ml Luft (Mittelwerte +/- Standardabweichung). (*) = Signifikanter Unterschied zum Ausgangswert ($p < 0,05$) (ANOVA).

D. Diskussion

D.1. Allgemeine pathophysiologische Veränderungen in der Lunge unter den Bedingungen einer Luftembolie

Bei einer Luftembolie der Lunge kommt es in diesem Organ zu einer großen Zahl pathophysiologischer Veränderungen.

In dieser Studie wurde sowohl besonderes Augenmerk auf die hämodynamischen Veränderungen im Lungenkreislauf gelegt als auch ein Monitoring der Lungenmasse durchgeführt, die als Indikator für eine Einlagerung von Flüssigkeit in das Präparat diene.

In weitgehender Übereinstimmung mit der zu Luftembolien der Lunge publizierten Literatur waren die dort beschriebenen pathophysiologischen Veränderungen hinsichtlich Hämodynamik und auftretender Ödembildung auch in unserem Versuchsmodell der isolierten und zellfrei perfundierten Kaninchenlunge reproduzierbar:

Sofort nach Embolieinduktion war ein massiver und rascher Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks zu verzeichnen, der im weiteren Verlauf des Versuches rasch wieder auf annähernd Ursprungswerte zurückging.

Diese Ergebnisse decken sich mit einer großen Zahl von Studien, die sowohl an isolierten Organmodellen [79, 80, 133, 134, 162] als auch im Ganztiersversuch [14, 56, 85, 124] zu diesem Thema durchgeführt wurden, und sind somit unbestritten.

Neben den oben beschriebenen Auswirkungen auf die Hämodynamik ließ sich von uns auch die zeitlich verzögerte Ausbildung eines Lungenödems, gemessen an der Zunahme der Organmasse, nachweisen. Dabei muß vermutet werden, daß als Ursache dieser Ödembildung nicht alleine ein erhöhter hydrostatischer Druck verantwortlich ist, sondern auch eine Störung der kapillären Permeabilität. Ein indirekter Hinweis auf das Vorliegen einer erhöhten kapillären Permeabilität ist, daß es bei den Versuchen erst nach 60 - 90 Minuten zu nennenswerten, allerdings dann rasch verlaufenden Massenzunahmen der Präparate kam, also zu einem Zeitpunkt, an dem der initial gestiegene PAP schon annähernd wieder Ausgangswerte erreicht hatte. Die Beteiligung einer erhöhten

Permeabilität als Ursache der Ödembildung wird auch durch mehrere Studien anderer Arbeitsgruppen gezeigt, die sich ebenfalls mit der Hämodynamik und Ödementstehung unter den Bedingungen einer Luftembolie beschäftigten [3, 31, 49, 50, 56, 120]. Anhand unterschiedlicher Spezies aber auch teilweise unterschiedlicher Methodik (z.B. dem Vorhandensein von Blutkomponenten oder im Ganztiersversuch) konnte eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität aufgezeigt werden.

D.2. Mediatorbeteiligung an der Pathophysiologie der Luftembolie

Die Literatur lieferte in der Vergangenheit immer wieder deutliche Hinweise, daß bei der Induktion pathophysiologischer Effekte im Rahmen von Lungenembolien neben dem sicherlich nicht zu vernachlässigenden Faktor der partiellen Strombahnverlegung durch den Embolus auch unterschiedliche Mediatorsysteme beteiligt sind. Im Mittelpunkt der Diskussion standen dabei v.a. Vertreter der Gruppe der AA-Metabolite, insbesondere das TXA₂. Weiterhin wurde die Beteiligung von Serotonin, PAF und Histamin diskutiert.

Neuere Studien brachten auch die 1988 von Yanagisawa entdeckten Peptidhormone aus der Familie der Endotheline in Zusammenhang mit dem pathophysiologischen Geschehen bei Lungenembolien [144, 162].

In der vorliegenden Arbeit wurde diesen Hinweisen aus der Literatur anhand des Modells der isolierten und mit Krebs-Henseleit-Puffer perfundierten Kaninchenlunge nachgegangen. Dieses bewährte Modell kann als isoliertes Organmodell, das zellfrei perfundiert wurde, wie jedes experimentelle Modell nur einen Teil der Realität darstellen. Ziel war es, die pathophysiologischen Reaktionen im Zusammenhang mit einer luftinduzierten Lungenembolie sowie deren mögliche medikamentöse Antagonisierbarkeit ohne den zusätzlichen Einfluss einer Zellperfusion zu untersuchen.

Zusammenfassend konnte in der hier vorliegenden Studie von uns gezeigt werden, daß bei Lungenembolien, die unter den Bedingungen dieses zellfrei perfundierten Versuchsmodells durch Luft induziert wurden, dem Arachidonsäuremetaboliten Thromboxan die Rolle eines potenten

Vermittlers der initialen PAP-Steigerung zukommt. Für den Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF) konnte ein Effekt im Hinblick auf eine späte Ödembildung der Lunge aufgezeigt werden, während sich für die vasoaktiven Peptidhormone aus der Gruppe der Endotheline kein Anteil an der Entstehung oder Aufrechterhaltung pathologischer Reaktionen unter den genannten Versuchsbedingungen nachweisen ließ.

D.2.1. Bestimmung der Endothelin-Konzentrationen im zirkulierenden Krebs-Henseleit-Puffer vor und nach Embolieinduktion.

1992 wurden von Wang et al. [162] Ergebnisse veröffentlicht, die neben signifikant erhöhten Konzentrationen von TXA_2 eine Erhöhung der ET-Konzentrationen nach Luftembolien im Modell der isolierten und mit einem Blutanteil perfundierten Rattenlunge zeigen konnten. Auf Grund dessen wurde von dieser Arbeitsgruppe eine Beteiligung von ET-1 an der pulmonalarteriellen Drucksteigerungsreaktion bei Luftembolien postuliert.

In der vorliegenden Arbeit konnte bei der Messung der Endothelin-Konzentrationen aus dem direkt hinter der Lunge gelegenen Reservoir des rezirkulierenden Krebs-Henseleit-Puffers weder vor noch nach der Induktion massiver Lungenembolien durch Luft ein messbarer Spiegel dieses Peptids nachgewiesen werden.

Bisher wurden nur wenige direkt vergleichbare Studien zur möglichen Beteiligung von ET bei Luftembolien der Lunge publiziert. Im weiteren werden auch andere Versuchsmodelle in die Diskussion miteinbezogen, bei denen ET-Konzentrationen im Zusammenhang mit Lungenembolien gemessen wurden, um den Stand der Literatur hinsichtlich dieses Themas darzustellen.

In einer von Dschietzig 1998 [35] vorgenommenen Untersuchung an isolierten und mit Krebs-Henseleit-Puffer perfundierten Kaninchenlungen, bei denen Mikroembolien durch Glaspartikel mit 100 μm Durchmesser gesetzt wurden, zeigte sich zwar ein Anstieg der Konzentration des ET-Vorläufers Big-Endothelin im Perfusat, ET selbst konnte dabei aber weder vor noch nach der Embolisierung nachgewiesen werden.

Auch in der bereits erwähnten, von Schmeck et al. durchgeführten Nachfolgestudie der vorliegenden Arbeit [134], die an isolierten und mit

10% Blutbeimischung perfundierten Kaninchenlungen durchgeführt wurde, war Endothelin im Perfusat nach Luftembolie nicht nachweisbar.

In scheinbarem Widerspruch zu diesen Beobachtungen stehen neben der oben dargestellten Arbeit von Wang in der Literatur einige weitere Studien, bei denen erhöhte Endothelin-Spiegel unter den genannten Bedingungen nachgewiesen werden konnten.

Sofia et al. 1997 [144] konnten bei Patienten mit Thrombembolien der Lunge ein signifikant erhöhtes Verhältnis von $[ET_{\text{arteriell}}]$ zu $[ET_{\text{venös}}]$ in Bezug auf eine gesunde Kontrollgruppe beobachten.

Bezieht man allerdings Untersuchungen von Dupuis [37, 38] und Wagner [161] in die Interpretation dieser Ergebnisse mit ein, die zeigen, daß menschliche Lungen unter physiologischen Bedingungen einen großen Teil zirkulierenden Endothelins aus dem Kreislauf eliminieren, so ist die Schlußfolgerung einer erhöhten ET-Synthese und Ausschüttung unter diesen Bedingungen zwar denkbar, aber nicht zwingend. Ebenso gut wäre unter den gegebenen pathologischen Verhältnissen in der Lunge eine verminderte pulmonale Clearance für diese Peptide möglich und hierdurch nicht eine erhöhte Syntheseleistung, sondern eine verminderte Elimination für den von Sofia et al. dargestellten Konzentrationsanstieg im Plasma verantwortlich zu machen. Auf diese Weise können auch die im Rahmen neuerer Studien nachgewiesenen erhöhten ET-1 Spiegel nach Lungenembolieinduktion mit Luft im Ganztiersversuch erklärt werden [93, 112, 151].

Auch bei Fruchtwasserembolien konnte von zwei Arbeitsgruppen ein signifikant erhöhter ET-Spiegel nachgewiesen werden [43, 88]. Diese Ergebnisse sind aus methodischen Gründen allerdings nur sehr eingeschränkt mit den unseren vergleichbar, da hierbei Zellen und andere Stoffe aus dem Fruchtwasser in den venösen Kreislauf und damit in die pulmonale Strombahn eingeschwemmt werden, die teilweise selbst über endokrines Potential verfügen und die Möglichkeit anderer Pfade der Mediatoraktivierung nahelegen.

Weiterhin müssen alle genannten Ergebnisse unter dem Aspekt betrachtet und bewertet werden, daß, obwohl ET-Spiegel unter verschiedenen Bedingungen im Plasma nachgewiesen werden konnten, Endotheline

doch hauptsächlich parakrin sezerniert werden und somit nur zu geringen Teilen in den Kreislauf gelangen. Die Aussagekraft der Messungen im Plasma ist daher sehr eingeschränkt. Dieser Sachverhalt spiegelt auch die Probleme bei der Interpretation anderer Studien wider, die auf ET-Messungen aus dem Plasma beruhen.

Aufgrund der wenigen direkt vergleichbaren Studien und der Unterschiede der verwendeten Methoden und Spezies fällt eine abschließende Beurteilung eines evtl. erhöhten ET-Spiegels bei Lungenembolien schwer und wird ebenso wie das Problem der generellen Interpretierbarkeit dieser Spiegel sicherlich Anlaß zu weiteren Untersuchungen geben.

D.2.2. Beteiligung von Endothelinen an den pathologischen Reaktionen der Lunge auf eine Luftembolie

In der vorliegenden Studie konnte durch indirekte Beweisführung mittels ET-Rezeptorantagonisierung gezeigt werden, daß Endotheline unter den beschriebenen Versuchsbedingungen einer zellfreien Organperfusion keinen Anteil an der Drucksteigerungsreaktion oder der Ödembildung der Lunge haben.

Mit Ausnahme der bereits erwähnten Nachfolgestudie von Schmeck et al. [134] finden sich in der Literatur nur wenige Publikationen, die sich mit dem Einfluß der Antagonisierung von ET-Rezeptoren auf den hämodynamischen Verlauf bei Lungenembolien beschäftigen. Daneben geben die unter D.2.1 aufgeführten Arbeiten, bei denen z.T. erhöhte ET-Spiegel unter den Bedingungen von Lungenembolien nachgewiesen werden konnten, einen Hinweis auf deren mögliche Beteiligung an den auftretenden pathophysiologischen Reaktionen.

Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit konnte in der Nachfolgestudie von Schmeck et al. [134] am Modell der isolierten und perfundierten Kaninchenlunge gezeigt werden, daß die Antagonisierung von ET_A-Rezeptoren durch den selektiven ET_A-Rezeptorantagonisten LU 135252 bei Luftembolien zu einer signifikanten Reduktion des initialen PAP-Anstiegs führt.

Diese Studie wurde an der gleichen Spezies durchgeführt und war auch hinsichtlich der angewandten Methodik annähernd identisch. Im

Unterschied zur vorliegenden Arbeit wurde allerdings die Zusammensetzung der die Lunge perfundierenden Flüssigkeit verändert. Der Gesamtmenge von 200 ml verwendeten Krebs-Henseleit-Puffers ohne weitere Zusätze standen bei Schmeck 180 ml Krebs-Henseleit-Puffer mit einem Zusatz von 20 ml autologem Vollblut gegenüber.

Aufgrund der sonst identischen Versuchsbedingungen ist zu fordern, daß die gesehenen Unterschiede auf dem Vorhandensein des zusätzlichen Faktors Blut mit seinen zellulären und humoralen Elementen basieren.

Für diese Annahme sprechen auch drei weitere Studien, bei denen im Ganztiersversuch durch eine ET-Rezeptorblockade ein verminderter Anstieg des PAP nach Induktion von Lungenembolien mit Luft gezeigt werden konnte [93, 112, 148].

Die Forderung nach einer Beteiligung von zellulären Bestandteilen und Plasmakomponenten des Blutes an der Pathophysiologie der Lungenembolie wird durch zahlreiche Hinweise aus der Literatur unterstützt, die eine Beteiligung v.a. neutrophiler Granulozyten an der embolieinduzierten Lungenschädigung aufzeigen konnten.

Ultrastrukturelle Untersuchungen von Albertine [3] an Schafslungen nach Luftembolie zeigten, daß sich die Schädigung durch die embolisierende Luft v.a. an den kleinen Gefäßen (Durchmesser 100 - 1000 µm) abspielt. Die dort verbleibenden Luftbläschen waren von einer großen Menge neutrophiler Granulozyten umgeben, die Mikroaggregate bildeten und ihrerseits in engem Kontakt zum Gefäßendothel standen.

Auch Versuche von Huang et al. [80], an isolierten und perfundierten Rattenlungen durchgeführt, konnten zeigen, daß die Anwesenheit von neutrophilen Granulozyten sowie von Komplement als potentieller Aktivator von Granulozyten, gemessen an der K_f , eine signifikant stärkere Schädigung der Lungengefäße bei Luftembolien hervorrief als dieselbe Anordnung ohne die genannten Faktoren.

Flick [48, 49] konnte anhand von zwei ähnlich angelegten Studien nachweisen, daß Leukozyten für die Schädigung der kleinen Gefäße verantwortlich sind. Da die Gabe von Superoxid-Dismutase diese Schädigung, wiederum gemessen an der K_f , signifikant vermindern

konnte, ist darauf zu schließen, daß von Leukozyten produziertes O_2^- zumindest partiell für die Permeabilitätssteigerung verantwortlich ist.

Neben der direkten Freisetzung von Substanzen (Arachidonsäuremetabolite, O_2 -Radikale, Elastase) aus den PMN triggern diese in aktiviertem Zustand auch die Synthese von Boten- und Effektorstoffen aus anderen Zellen. Hierzu gehören z.B. Cyclooxygenaseprodukte wie PGI_2 und TXA_2 [75, 119].

Weitere Untersuchungen, die im Zusammenhang damit durchgeführt wurden, konnten zeigen, daß auch Endotheline PMN-getriggert synthetisiert und ausgeschüttet werden: Im Modell isolierter und perfundierter Kaninchenlungen wurden in die Zirkulation verbrachte Granulozyten durch N-formyl-L-leucin-methionyl-L-phenylalanine (FMLP) aktiviert. Dabei konnte neben einem Anstieg der TXA_2 -Konzentration auch ein signifikant erhöhter Spiegel von ET-1 im Perfusat nachgewiesen werden. Der durch die Aktivierung zu verzeichnende initiale Druckanstieg konnte dabei durch den ET_A -Rezeptorantagonisten LU 135252 signifikant verringert werden [135].

Die Gesamtheit der oben genannten Ergebnisse läßt vermuten, daß in isolierten und perfundierten Kaninchenlungen unter Luftembolien eine ET-Synthese nur induziert wird, wenn diese über zelluläre Komponenten des Blutes angestoßen wird.

Die hier vorgestellte Arbeit kann im Vergleich mit der Nachfolgestudie zeigen, daß ET trotz der o.g. Tatsachen nur einen Teil der pathologischen Reaktionen der Lunge bei Luftembolien triggert, da auch bei der zellfreien Perfusion mit Krebs-Henseleit-Puffer ein massiver Anstieg des PAP als Antwort auf die Luftembolie beobachtet wurde. Hier konnte der initiale Druckanstieg durch Cyclooxygenasehemmung signifikant vermindert werden, während dieser Effekt durch die ET-Rezeptorantagonisierung nicht nachweisbar war. Diese Ergebnisse werden durch Messungen des stabilen TXA_2 -Metabolit TXB_2 aus dem Perfusat vor und nach Embolieinduktion untermauert, bei der ein signifikanter Anstieg von TXB_2 nach Embolieinduktion im Vergleich zur Steady State Situation nachzuweisen war.

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der Nachfolgestudie von Schmeck et al. muß gefordert werden, daß unter den Bedingungen einer zellfreien Perfusion die Thromboxansynthese der Endothelzellen durch Luftembolien auch direkt aktiviert werden kann und nicht notwendigerweise nur über eine Aktivierung zellulärer Blutkomponenten verläuft.

D.2.3. Beteiligung von TXA₂ an der initialen Drucksteigerung des PAP nach Luftembolie

Wie bereits im vorstehenden Abschnitt angedeutet, konnte durch die vorliegende Studie sowohl direkt über Mediatorenmessungen aus dem Perfusat als auch indirekt über deren Antagonisierung mittels Cyclooxygenasehemmung der Nachweis geführt werden, daß im von uns verwendeten Versuchsmodell der zellfrei perfundierten und isolierten Kaninchenlunge der Arachidonsäuremetabolit TXA₂ neben der rein physikalisch bedingten PAP-Steigerung durch partielle Verlegung der Lungenstrombahn ein potenter Vermittler der initialen Drucksteigerungsreaktion bei Luftembolien ist.

Im Literaturvergleich finden sich Arbeiten anderer Gruppen, die sowohl eine Erhöhung der Konzentration dieses Mediators bei Lungenembolien als auch dessen Beteiligung an der Druckreaktion aufzeigen konnten. Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen der im weiteren vorgestellten Studien und denen der vorliegenden Arbeit muß, wie auch im Abschnitt über die ET vermittelten Reaktionen, allerdings unter dem Aspekt der methodischen Unterschiede erfolgen. Eine Übersicht diesbezüglich gibt Tabelle 4.

D.2.3.1. Lungenemboliebedingte Veränderungen der TXA₂-Konzentration bei verschiedenen Spezies

Ein Anstieg der TXA₂-Konzentration (Messung aus Serum- oder durch Lymphfisteln der Lunge gewonnenen Proben) nach einer Lungenembolie wurde im Ganztiersversuch an Schafen [14, 58], Hausschweinen [129], Hunden [85] und Kaninchen [149, 150] beobachtet.

Experimentelle Untersuchungen an isolierten und perfundierten Lungen von Kaninchen [123, 149, 133, 134] und Ratten [162], die ebenfalls eine

Erhöhung des TXA₂-Spiegels zeigen konnten, bestätigen diese Ergebnisse. Sie können darüberhinaus durch die Versuchsanordnung des isolierten Organs auch zeigen, daß das gemessene TXA₂ in der Lunge selbst synthetisiert wird.

Hinweise auf eine Beteiligung von TXA₂ an den pathophysiologischen Veränderungen der Lunge nach Lungenembolie konnten auch beim *Menschen* gesehen werden:

So konnten sowohl von Galietti [57] als auch von Friedrich [53] erhöhte TXA₂-Spiegel bei Patienten mit akuten Thrombembolien der Lunge nachgewiesen werden. Uneinigkeit besteht allerdings zwischen diesen beiden Autoren bezüglich der tatsächlichen Vermittlung der Druckanstiegsreaktion durch diesen Mediator. Während Galietti eine Korrelation zwischen der Höhe der TXA₂-Spiegel und dem Schweregrad der Klinik aufzeigen konnte, war dies bei Friedrich nicht möglich.

D.2.3.2. Beurteilung der hämodynamischen

Veränderungen durch TXA₂

Im Tierversuch konnte durch Cyclooxygenasehemmung oder TXA₂-Synthetase-Inhibition von vielen dazu publizierten Studien der Nachweis erbracht werden, daß die initiale emboliebedingte Drucksteigerungsreaktion zumindest partiell TXA₂-vermittelt ist.

So konnte von Todd im Ganztierversuch an Kaninchen [150] gezeigt werden, daß sich die pulmonalarterielle Druckreaktion nach Lungenembolien in Übereinstimmung mit der dadurch verminderten TXA₂-Konzentration im Blut durch Vorbehandlung mit dem Cyclooxygenasehemmer Acetylsalicylsäure signifikant vermindern läßt.

Eine für TXA₂ noch spezifischere Antagonisierung über die Hemmung seiner Synthese mit Dazoxiben bei Schafen unter den Bedingungen einer Lungenembolie zeigte die gleichen Ergebnisse [58].

Auch die Arbeiten, die der hier vorgestellten Studie durch ihre Methodik am ähnlichsten sind, unterstützen die oben dargestellte Rolle von TXA₂:

In von Todd [149] durchgeführten Versuchen an isolierten und perfundierten Kaninchenlungen, bei denen vor Thrombembolisation Acetylsalicylsäure gegeben wurde, konnte durch diese Behandlung der

PAP-Anstieg gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe signifikant vermindert werden. Die beobachtete Abnahme des PAP ging dabei mit der Abnahme der TXA₂-Konzentration im Perfusat einher.

Auch in der von Schmeck et al. durchgeführten Nachfolgestudie dieser Arbeit, die sich in der Methodik allerdings durch eine 10% Blutbeimengung zum Perfusat unterschied, konnte im Versuchsverlauf eine signifikante Verminderung des PAP unter Diclofenac-Antagonisierung beobachtet werden. Im Unterschied zu den hier geschilderten Ergebnissen war dabei der initiale Druckanstieg zwar beobachtbar aber nicht signifikant vermindert.

Aufgrund der dargestellten Ergebnisse [133, 134, 149] kann bei der verwendeten Spezies Kaninchen die Steigerung der TXA₂-Synthese und die Beteiligung des Arachidonsäuremetaboliten TXA₂ an der Drucksteigerungsreaktion bei Lungenembolien als sehr wahrscheinlich angesehen werden.

Gleichwohl muß erwähnt werden, daß sich bei anderen Spezies die Datenlage im Hinblick auf diesen Zusammenhang nicht so eindeutig darstellt.

So konnte von Bonsignore et al. [14] im Ganztierversuch am Schaf nach vierstündiger kontinuierlicher Embolisation mit Luft zwar eine Steigerung der TXA₂-Konzentration gezeigt werden, eine TXA₂-Synthetase-Inhibition mit U63,557A brachte jedoch keine Veränderung der hämodynamischen Parameter im Vergleich mit der nicht medikamentös vorbehandelten Kontrollgruppe.

Auch bei von Huang et al [80] durchgeführten experimentellen Untersuchungen an isolierten und zellfrei perfundierten Rattenlungen zeigte sich bei einer Vorbehandlung mit einem Cyclooxygenasehemmer keine veränderte Druckreaktion im Kontrollgruppenvergleich.

Autor/Jahr/ (Literaturverz.)	Spezies	Embolieinduktion	Perfusions- medium
Todd 1983 (149)	Kaninchen - Ganztier - Isoliertes Lungenpräparat	Thrombembolie	Vollblut (Ganztier) zellfrei (isoliertes Lungenpräparat)
Todd 1983 (150)	Kaninchen (Ganztier)	Thrombembolie	Vollblut
Wang 1992 (162)	Ratten (isoliertes Lungenpräparat)	Luftembolie	Anteil autologes Vollblut
Huang 1997 (79)	Ratten (isoliertes Lungenpräparat)	Luftembolie	Zellfreie Perfusion
Bonsignore 1986 (14)	Schaf (Ganztier)	Luftembolie	Vollblut
Schmeck 1998 (134)	Kaninchen (isoliertes Lungenpräparat)	Luftembolie	Anteil autologes Vollblut

Tabelle 4: Übersicht über die methodischen Unterschiede der hier erwähnten Studien zur Beteiligung von TXA₂ bei Lungenembolien.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Mehrzahl der bis heute veröffentlichten Arbeiten einen Konzentrationsanstieg von TXA_2 und eine Beteiligung dieses Mediators an der Druckreaktion bei Lungenembolien unterstützt. Die Ursachen der oben beschriebenen Speziesunterschiede hinsichtlich dieses Punktes basieren dabei mit einiger Wahrscheinlichkeit auf den von Völkel [160] beschriebenen speziesspezifischen Synthesemustern für Eicosanoide sowie der unterschiedlichen Methodik der Studien.

D.2.4. Indirekter Nachweis einer Beteiligung des PAF an einer späten Ödembildungsreaktion nach Luftembolie

Neben den oben beschriebenen Ergebnissen einer mediatorvermittelten Änderung der Hämodynamik bei Lungenembolien konnte in dieser Arbeit auch gezeigt werden, daß die von uns gesehene späte Ödembildungsreaktion unter den Bedingungen einer zellfreien Organperfusion der Lunge zumindest zum Teil PAF-vermittelt ist. Durch präembolische Gabe des PAF-Rezeptorantagonisten WEB2086 konnte diese Reaktion signifikant verzögert werden.

Wie eingangs bereits beschrieben, konnte durch zahlreiche experimentelle Emboliestudien eine auf erhöhter kapillärer Permeabilität basierende Ödembildung nachgewiesen werden [3, 31, 49, 50, 56, 120].

Ein breites Spektrum an Mediatoren ist unter bestimmten Bedingungen in der Lage, die kapilläre Permeabilität in der Lunge zu erhöhen. Zu diesen potentiell permeabilitätssteigernden Mediatoren zählen neben den Arachidonsäuremetaboliten wie TXA_2 und der Gruppe der Leukotriene [30] auch der Plättchen-aktivierende Faktor.

Wie bereits im Einleitungsteil über PAF beschrieben, werden inflammatorisch aktive Zellen durch PAF neben einer wohl eher untergeordneten endokrinen Wirkkomponente mit geringer Halbwertszeit (rasche Degradation durch die PAF-Acetylhydrolase) hauptsächlich auf parakrinem und juxtakrinem Wege beeinflusst [128]. Der hierbei beschrittene Weg führt über eine gleichzeitige Präsentation von PAF mit

Adhäsionsproteinen, wie dem P-Selectin, an der Oberfläche von stimulierten Zellen, wie z.B. Endothelzellen. Die dadurch hervorgerufene Adhäsion von z.B. Polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten ermöglicht die räumliche Nähe, damit PAF an den PAF-Rezeptor auf der Oberfläche der PMN binden kann [98]. Getriggert durch die PAF-Rezeptoraktivierung ändern diese Zellen ihren Funktionszustand z.B. mit einem Einfluss auf die Produktion von Sauerstoffradikalen und proteolytischen Enzymen, aber auch auf die Leukozytenmigration und –adhäsion. Daher ist es nicht verwunderlich, daß von Mojarad [113] und Li [94] der Nachweis einer durch PAF erhöhten Vasopermeabilität im Ganztiersversuch an Hunden sowie an Meerschweinchen erbracht werden konnte.

Unter experimentellen Bedingungen konnte jedoch ebenso gezeigt werden, daß PAF als Mediator auch in Abwesenheit von Zellen des Blutes einen Einfluss auf Organe haben kann:

Von Imai 1988 durchgeführte Versuche an isolierten und zellfrei perfundierten Rattenlungen konnten einen durch PAF induzierten Anstieg des PAP sowie eine Ödembildungsreaktion aufzeigen, die durch Gabe von selektiven PAF-Antagonisten signifikant vermindert werden konnte [84].

Ebenso konnten von Hamasaki 1984 durchgeführte Untersuchungen an isolierten und zellfrei perfundierten Meerschweinchenlungen einen Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes sowie einen Anstieg des extravaskulären Lungenwassers durch PAF aufzeigen. Diese Veränderungen gingen mit einer gesteigerten Bildung von TXA_2 einher [66].

Hinweise, die auf eine Beteiligung dieses Mediators bei Lungenembolien hindeuten, wurden von Nakos [117] publiziert, der am Menschen eine bei Lungenembolien erhöhte Konzentration des PAF in der bronchoalveolären Lavage nachweisen konnte.

Trotz der oben dargestellten erhöhten PAF-Konzentration in der BAL bei Lungenembolien und der experimentell nachgewiesenen PAF-induzierten Permeabilitätssteigerung ist eine weitere Untermauerung seiner

Beteiligung am pathophysiologischen Geschehen bei Lungenembolien durch die geringe Zahl der dazu durchgeführten Studien zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht möglich.

Weitere Untersuchungen werden die Rolle dieses Mediators bei Lungenembolien näher charakterisieren müssen.

E. Zusammenfassung

Thrombembolien der Lunge gehören trotz einer heute als Standard durchgeführten Therapie mit Antikoagulantien immer noch zu den gefürchteten Komplikationen der Immobilisation von Patienten während eines Klinikaufenthaltes.

Aber auch Embolien durch andere Stoffe wie Luft, Fruchtwasser oder Fett stellen in den entsprechenden klinischen Situationen eine nicht unerhebliche Gefährdung für Patienten dar.

Ein akuter Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes und die vermehrte Einlagerung interstitieller Flüssigkeit bis hin zum alveolären Lungenödem sind beobachtbare pathophysiologische Veränderungen bei Lungenembolien, die allerdings nur zum Teil auf eine rein physikalische Verlegung der Lungenstrombahn zurückführbar sind. Vieles spricht für eine Beteiligung unterschiedlicher Mediatorsysteme an diesen Veränderungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, am Organmodell der zellfrei perfundierten isolierten Kaninchenlunge diejenigen pathologischen Reaktionen auf Luftembolien darzustellen, die unabhängig sind vom Einfluss einer zusätzlichen Blutperfusion als weiterem Faktor, der im Rahmen von embolischen Geschehnissen mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Rolle spielt. Desweiteren war es Ziel der Arbeit, unter den genannten Bedingungen den Effekt von Rezeptorantagonisten und Syntheseinhibitoren verschiedener möglicher Mediatoren (Endothelin, PAF sowie Eicosanoidmediatoren) auf die ohne Antagonisierung beobachteten pathologischen Reaktionen darzustellen, dies ebenfalls ohne den Einfluss einer Blutperfusion. Darüberhinaus wurden Spiegel verschiedener Mediatoren (Endothelin-1, 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ (stabile Metaboliten von Prostacyclin und TXA₂)) vor und nach Luftembolie aus dem Perfusat bestimmt, um über einen direkten Nachweis dieser Mediatoren die beobachteten Änderungen unter Rezeptorantagonisierung bzw. Synthesehemmung weiter zu untermauern.

Verwendet wurde dazu ein venösseitig offenes, rezirkulierendes Perfusionssystem, das eine kontinuierliche flow-konstante Organperfusion

sowie das Monitoring des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) und der Lungenmasse erlaubte.

Untersucht wurde zunächst die Veränderung des PAP und der Lungenmasse (Indikator für interstitielle Flüssigkeitseinlagerung) bei artefiziell herbeigeführten Lungenembolien durch 0,75 ml Luft. Hier zeigte sich ein sofort nach der Embolisation einsetzender Anstieg des PAP von seinem Ausgangsdruck bei $7,5 \pm 0,2$ (SE) mmHg auf $24,6 \pm 1,7$ (SE) mmHg, der in der Folge rasch wieder sank.

Bei der Aufzeichnung der Lungenmasse zeigte sich kurz nach der Embolisation zunächst eine vasokonstriktiv bedingte Abnahme der Organmasse. Mit zeitlicher Verzögerung von 60-90 min setzte schließlich eine rasch zunehmende Flüssigkeitseinlagerung ein, die in der Endphase in ein alveoläres Lungenödem mündete.

Unter der Vorbehandlung mit dem ET_A -Rezeptorantagonisten BQ123 oder dem ET_B -Rezeptorantagonisten BQ788 konnte weder hinsichtlich des PAP-Verlaufes noch hinsichtlich der Massenänderung der Lunge ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich mit der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die Messung der ET-Konzentrationen aus dem Perfusat mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen ELISA-Kits konnte weder vor noch nach Embolisation messbare Spiegel des Hormons aufzeigen.

Eine Vorbehandlung durch den Cyclooxygenaseblocker Diclofenac konnte den initialen Anstieg des PAP im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,01$) vermindern. Dagegen änderte diese medikamentöse Vorbehandlung nichts am Ausmaß der nach 60-90 min beginnenden Flüssigkeitseinlagerung in das Organ. Untermauert werden diese Ergebnisse durch die Konzentrationsbestimmungen der stabilen Metaboliten von TXA_2 und PGI_2 (TXB_2 und 6-keto $PGF_{1\alpha}$) vor und nach Embolieinduktion mit 0,75 ml Luft ohne vorherige Antagonisierung. Hier zeigte sich ein signifikanter Anstieg der TXB_2 -Konzentration im Perfusat nach Embolisation im Vergleich zur Steady State Phase.

Im Gegensatz dazu konnte die Applikation des PAF-Antagonisten WEB 2086 vor Embolieinduktion die initiale Drucksteigerungsreaktion des PAP nicht vermindern. Diese Versuchsserie zeigte aber im Kontrollgruppenvergleich eine statistisch signifikante Veränderung ($p < 0,05$) hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Massenzunahme im Sinne eines verspäteten Eintretens dieser Reaktion.

Zusammenfassend sprechen die vorliegenden Ergebnisse, bestätigt durch Beobachtungen anderer Autoren, für eine Beteiligung von Arachidonsäuremetaboliten, insbesondere des TXA_2 , an der initialen Drucksteigerungsreaktion des PAP. Da zelluläre Einflüsse des Blutes durch die gewählten Modellbedingungen in der vorliegenden Arbeit keine Rolle spielten, konnte gezeigt werden, daß TXA_2 in diesem Modell unter den Bedingungen einer Luftembolie blutkomponentenunabhängig mehrsynthetisiert wird und daß der Trigger hierfür ebenfalls unabhängig vom Vorhandensein von Blutzellen war.

Überdies weisen die oben dargestellten Ergebnisse unter PAF-Rezeptorantagonisierung durch statistisch signifikante zeitliche Verzögerung des nach Luftembolie beobachtbaren Lungenödems auf eine Beteiligung des Plättchen-aktivierenden Faktors an diesem Zustand hin. Da auch hier zellfrei perfundiert wurde, ist unter den gewählten Modellbedingungen dieser Befund offensichtlich ebenfalls unabhängig vom Vorhandensein zellulärer Blutkomponenten, die ansonsten bei der Vermittlung von PAF-Signalen eine große Rolle spielen.

Eine Beteiligung der vasoaktiven Peptidhormone aus der Gruppe der Endotheline konnte in der vorliegenden Studie, zumindest unter den gegebenen Versuchsbedingungen des zellfrei perfundierten isolierten Lungenpräparates, nicht nachgewiesen werden. Im Hinblick auf eine Nachfolgestudie von Schmeck et al. [134], die unter ansonsten identischen Versuchsbedingungen mit einem Zusatz 10% autologem Vollblutes perfundierten und unter diesen Bedingungen eine signifikante Minderung des PAP unter ET-A Rezeptorantagonisierung zeigen konnten,

muß im Vergleich mit der vorliegenden Studie von einer Blutzellbeteiligung ET-vermittelter Effekte auf den PAP ausgegangen werden.

F. Literaturverzeichnis

1. Abassi ZA, Golomb E, Bridenbaugh R, Keiser HR: Metabolism of endothelin-1 and big endothelin-1 by recombinant neutral endopeptidase EC.3.4.24.11. Br J Pharmacol 109(4): 1024-8, 1993.
 2. Advenier C, Sarria B, Naline E, Puybasset L, Lagente V: Contractile activity of three endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) on the human isolated bronchus. Br J Pharmacol 100(1) : 168-172, 1990.
 3. Albertine KH: Quantification of damage by air emboli to lung microvessels in anesthetized sheep. J Appl Physiol. 57(5) : 1360-8, 1984.
 4. Ali H, Richardson RM, Tomhave ED, DuBose RA, Haribabu B, Snyderman R: Regulation of stably transfected platelet activating factor receptor in RBL-2H3 cells. Role of multiple G proteins and receptor phosphorylation. J Biol Chem 269(40): 24557-63, 1994.
 5. Andersen NH, Nartzell CJ, De B: Chemistry and structure of cyclooxygenase-derived eicosanoids; a historical perspective. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res 14 : 1-44, 1985.
 6. Angehrn W: Akute Lungenembolien: Pathophysiologie, Klinik und Therapie. Schweiz. med. Wschr. 112: 557-561, 1982
 7. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. Nature 348 : 730-2, 1990.
 8. Barman SA, Pauly JR: Mechanism of action of endothelin-1 in the canine pulmonary circulation. J Appl Physiol 79(6) : 2014-2020, 1995.
 9. Battistini B, D'Orleans-Juste P, Sirois P: Endothelins: Circulating plasma levels and presence in other biological fluids. Lab Invest 68: 600-28, 1993.
-

10. Battistini B, Warner TD, Fournier A, Vane JR: Characterization of ETB receptors mediating contractions induced by endothelin-1 or IRL 1620 in guinea-pig isolated airways: effects of BQ-123, FR139317 or PD 145065. *Br J Pharmacol* 111(4) : 1009-1016, 1994.
 11. Battistini B, Brown M, Vane JR: Selective proteolytic activation and degradation of ETs and big ETs in parenchymal strips of the guinea-pig lung. *Biochem Biophys Res Commun* 207(2) : 675-81, 1995.
 12. Benveniste J, Henso PM, Cochrane CG: Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets: The role of IgE, basophils and a platelet activating factor. *J Exp Med* 136: 1356-1377, 1972.
 13. Böttiger BW, Bach A, Böhrer H, Martin E: Die akute Thrombembolie der Lunge. *Anaesthesist* 42: 55-73, 1993.
 14. Bonsignore MR, Rice TR, Dodek PM, Staub NC: Thromboxane and prostacyclin in acute lung injury caused by venous air emboli in unanesthetized sheep. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 3(2) : 187-212, 1986.
 15. Bonvallet ST, Oka M, Yano M, Zamora MR, McMurtry IF, Stelzner TJ: BQ123, an ETA receptor antagonist, attenuates endothelin-1-induced vasoconstriction in rat pulmonary circulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 22(1) : 39-43, 1993.
 16. Botting RM, Vane JR: Endothelins: potent releasers of prostacyclin and EDRF. *Pol J Pharmacol Pharm* 42(3) : 203-218, 1990.
 17. Braquet P, Paubert-Braquet M, Vargaftig BB: Platelet activating factor, a potential mediator of shock. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 17 : 818-823, 1987.
-

-
18. Breil I, Koch T, Rothfischer W, Münter K, Neuhof H, van Ackern K: Endothelin induced effects on pulmonary vascular reaction and mediator release in the isolated lung. *Br J Anaest* 76(Suppl. 2) : 106, 1996.
 19. Breil I, Schmeck J, Grünling S, Neuhof H, van Ackern K, Koch T: Pathophysiologic and therapeutic aspects of lung embolism: experiments in the isolated rabbit lung. *Acta anaesth Scandinavica* 49(Suppl. 109): 233, 1996.
 20. Buchan KW, Magnusson H, Rabe KF, Sumner MJ, Watts IS: Characterisation of the endothelin receptor mediating contraction of human pulmonary artery using BQ123 and Ro 46-2005. *Eur J Pharmacol* 260: 221-226, 1994.
 21. Buddecke E: *Grundriss der Biochemie für Studierende der Medizin, Zahnmedizin und Naturwissenschaften*. 8. Auflage - Berlin, New York, de Gruyter, 1989.
 22. Candenas ML, Naline E, Sarria B, Advenier C: Effect of epithelium removal and of enkephalin inhibition on the bronchoconstrictor response to three endothelins of the human isolated bronchus. *Eur J Pharmacol* 210(3): 291-297, 1992.
 23. Casals-Stenzel J, Muacevic G, Weber KH: Pharmacological actions of WEB 2086, a new specific antagonist of platelet activating factor. *J Pharmacol Exp Ther* 241(3): 974-81, 1987.
 24. Casals-Stenzel J: Triazolodiazepines are potent antagonists of platelet activating factor (PAF) in vitro and in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 335(3): 351-5, 1987.
 25. Cassin S, Kristova V, Davis T, Kadowitz P, Gause G: Tone-dependent responses to endothelin in the isolated perfused fetal sheep pulmonary circulation in situ. *J Appl Physiol* 70(3) : 1228-1234, 1991.
-

26. Chilton FH, O'Flaherty JT, Walsh CE, Thomas MJ, Wykle RL, de Chatelet LR, Waite ML: Platelet activating factor: stimulation of the lipoxygenase pathway in polymorphonuclear leukocytes by 1-O-alkyl-2-O-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine. *J Biol Chem* 257: 5402-5407, 1982.

 27. Crawley DE, Liu SF, Barnes PJ, Evans TW: Endothelin-3 is a potent pulmonary vasodilator in the rat. *J Appl Physiol* 72(4) : 1425-1431, 1992.

 28. Dahlen SE, Björk J, Hedqvist P, Arfors KE, Hammarström S, Lindgren JA, Samuelson B: Leukotriens promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: In vivo effects with the relevance to the acute inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 3887-3891, 1981.

 29. Davenport AP: International Union of Pharmacology. XXIX. Update on endothelin receptor nomenclature. *Pharmacol Rev* 54(2): 219-26, 2002.

 30. Davies P, Bailey PJ, Goldenberg MM, Ford-Hutchinson AW: The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. *Ann Rev Immunol* 2: 335-357, 1984.

 31. Domb M, Goldstein J, Vincent JL, Azimi G, Lignian H, Bernard A, Brimioulle S, Lejeune P, Duchateau J: Haemodynamic, gasometric and haematological effects of air infusion in dogs: leukotriene inhibition with U-60,257. *Bull Eur Physiopathol Respir* 22(4) : 375-80, 1986.

 32. D'Orleans-Juste P, Labonte J, Bkaily G, Choufani S, Plante M, Honore J: Function of the endothelin(B) receptor in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Pharmacol Ther* 95(3): 221-38, 2002.
-

33. Douglas SA, Ohlstein EH: Signal transduction mechanisms mediating the vascular actions of endothelin. *J Vasc Res* 34(3) : 152-164, 1997.
 34. Druml W, Steltzer H, Waldhäusl W, Lenz K, Hammerle A, Vierhapper H, Gasic S, Wagner OF: Endothelin-1 in Adult Respiratory Distress Syndrom. *Am Rev Respir Dis* 148 : 1169-73, 1993.
 35. Dschietzig T, Laule M, Alexiou K, Schror K, Baumann G, Stangl K: Coronary constriction and consequent cardiodepression in pulmonary embolism are mediated by pulmonary big endothelin and enhanced in early endothelial dysfunction. *Crit Care Med* 26(3): 510-7, 1998.
 36. Dunham BM, Hechtman HB, Valeri CR, Shepro D. Antiinflammatory agents inhibit microvascular permeability induced by leukotrienes and by stimulated neutrophils. *Microcirc Endthelium Lymphatics* 1: 465-489, 1981.
 37. Dupuis J, Stewart DJ, Cernacek P, Gosselin G: Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation* 94(7) : 1578-1584, 1996.
 38. Dupuis J, Goresky CA, Fournier A: Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ETB receptors. *J Appl Physiol* 81(4) : 1510-1515, 1996.
 39. Dyson MC, Kadowitz PJ: Analysis of responses to endothelins 1, 2, and 3 and sarafotoxin 6b in airways of the cat. *J Appl Physiol* 71(1) : 243-51, 1991.
 40. Edano T, Arai K, Koshi T, Torii T, Ohshima T, Hirata M, Ohkuchi M, Okabe T: Digestion of endothelin-1 on cultured vascular smooth muscle cells. *Biol-Pharm-Bull.* 17(3) : 376-8, 1994.
-

41. Eddahibi S, Springall D, Mannan M, Carville C, Chabrier PE, Levame M, Raffestin B, Polak J, Adnot S: Dilator effect of endothelins in pulmonary circulation: changes associated with chronic hypoxia. *Am J Physiol* 265: 571-80, 1993.
 42. Elliott CG: Pulmonary Physiology during Pulmonary Embolism. *Chest* 101(4), 1992 (Supplement).
 43. el Maradny E, Kanayama N, Halim A, Maehara K, Terao T: Endothelin has a role in early pathogenesis of amniotic fluid embolism. *Gynecol Obstet Invest* 40(1) : 14-8, 1995.
 44. Emoto N, Yanagisawa M: Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. *J-Biol-chem.* 270(25) : 15262-8, 1995.
 45. Fagny C, Michel A, Nortier J, Deschodt-Lanckman M: Enzymatic degradation of endothelin-1 by activated human polymorphonuclear neutrophils. *Regul-Pept.* 42(1-2) : 27-37, 1992.
 46. Filep JG: Endothelin Petides: Biological actions and pathophysiological significance in the lung. *Life Sci* 52: 119-31, 1992.
 47. Filep JG, Battistini B, Sirois P: Induction by endothelin-1 of epithelium-dependent relaxation of guinea-pig trachea in vitro: role for nitric oxide. *Br J Pharmacol* 109(3) : 637-644, 1993.
 48. Flick MR, Perel A, Staub NC: Leukocytes are required for increased lung microvascular permeability after microembolization in sheep. *Circ Res* 48(3) : 344-51, 1981.
 49. Flick MR, Hoeffel JM, Staub NC: Superoxide dismutase with heparin prevents increased lung vascular permeability during air emboli in sheep. *J Appl Physiol* 55(4) : 1284-91, 1983.
-

50. Flick MR, Milligan SA, Hoeffel JM, Goldstein IM: Catalase prevents increased lung vascular permeability during air emboli in unanesthetized sheep. *J Appl Physiol* 64(3): 929-35, 1988.
 51. Ford-Hutchinson AW: Leukotriens: their formation and role as inflammatory mediators. *Fed Proc* 44 : 25-29, 1985.
 52. Frelin C, Guedin D: Why are circulating concentrations of endothelin-1 so low? *Cardiovasc-Res.* 28(11) : 1613-22, 1994.
 53. Friedrich T, Lichey J, Nigam S, Maiga M, Schulze G, Wegscheider K, Priesnitz M: Prostaglandin production in patients with pulmonary embolism. *Biomed Biochim Acta* 43(8-9) : 409-12, 1984.
 54. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M: Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 199(3) : 1461-5, 1994.
 55. Fukuroda T, Ozaki S, Ihara M, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M: Synergistic inhibition by BQ-123 and BQ-788 of endothelin-1-induced contractions of the rabbit pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 113(2): 336-8, 1994.
 56. Fukushima M, Kobayashi T: Effects of thromboxane synthase inhibition on air emboli lung injury in sheep. *J Appl Physiol* 60(6) : 1828-33, 1986.
 57. Galietti F, Giorgis GE, Oliaro A, Ardizzi A, Barberis S, Onoscuri M, Spinello M: The release of thromboxane B2 and 6-keto-PGF1 alpha following pulmonary embolism. *Panminerva Med* 31(4) : 177-9, 1989.
 58. Garcia-Szabo R, Johnson A, Malik AB: Thromboxane increases pulmonary vascular resistance and transvascular fluid and protein
-

exchange after pulmonary microembolism. *Prostaglandins* 35(5) : 707-21, 1988.

59. Gellai M, Fletcher T, Pullen M, Nambi P: Evidence for the existence of endothelin-B receptor subtypes and their physiological roles in the rat. *Am J Physiol* 271: 254-61, 1996.

60. Giaid A, Hamid QA, Springall DR, Yanagisawa M, Shinmi O, Sawamura T, Masaki T, Kimura S, Corrin B, Polak JM: Detection of endothelin immunoreactivity and mRNA in pulmonary tumours. *J Pathol* 162(1) : 15-22, 1990.

61. Goldie RG, Henry PJ, Knott PG, Self GJ, Luttmann MA, Hay DW: Endothelin-1 receptor density, distribution, and function in human isolated asthmatic airways. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 1653-58, 1995.

62. Gratton JP, Maurice MC, D'Orleans-Juste P: Characterization of endothelin receptors and endothelin-converting enzyme activity in the rabbit lung. *J Cardiovasc Pharmacol* 26 (Suppl 3) : 88-90, 1995.

63. Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS: The endothelin-1 receptor antagonist BQ123 reduced infarct size in a canine model of coronary occlusion and reperfusion. *Cardiovasc Res* 27 : 1613-8, 1993.

64. Grunstein MM, Chuang ST, Schramm CM, Pawlowski NA: Role of endothelin 1 in regulating rabbit airway contractility. *Am J Physiol* 260: 75-82, 1991.

65. Grunstein MM, Rosenberg SM, Schramm CM, Pawlowski NA: Mechanisms of action of endothelin 1 in maturing rabbit airway smooth muscle. *Am J Physiol* 260: 434-43, 1991.

66. Hamasaki Y, Mojarad M, Saga T, Tai HH, Said SI: Platelet-activating factor raises airway and vascular pressures and induces edema

in lungs perfused with platelet-free solution. Am Rev Respir Dis 129(5): 742-6, 1984.

67. Hammarström S: Leukotriens. Ann Rev Biochem 52 : 355-77, 1983.

68. Hanahan DJ, Demopoulos CA, Pinckard RN: Identification of a platelet activating factor isolated from rabbit. J Biol Chem 255 : 5514-16, 1980.

69. Handley DA, Arbeeny CM, Lee ML, van Valen RG, Saunders RG: Effect of platelet-activating factor on endothelial permeability to plasma macromolecules. Immunopharmacology 9 : 54-52, 1984.

70. Hasunuma K, Rodman DM, O'Brien RF, McMurtry IF: Endothelin 1 causes pulmonary vasodilation in rats. Am J Physiol 259: 48-54, 1990.

71. Hattori M, Arai H, Inoue K: Purification and characterization of bovine brain platelet-activating factor acetylhydrolase. J Biol Chem 268(25): 18748-53, 1993.

72. Hay DW, Hubbard WC, Udem BJ: Endothelin-induced contraction and mediator release in human bronchus. Br J Pharmacol 110(1) : 392-98, 1993.

73. Hay DW, Luttmann MA, Hubbard WC, Udem BJ: Endothelin receptor subtypes in human and guinea-pig pulmonary tissues. Br J Pharmacol 110(3) : 1175-83, 1993.

74. Hemsén A, Franco-Cereceda A, Matran R, Rudehill A, Lundberg JM: Occurrence, specific binding sites and functional effects of endothelin in human cardiopulmonary tissue. Eur J Pharmacol 191(3) : 319-328, 1990.

75. Henderson WR: Eicosanoids and lung inflammation. *Am Rev Respir Dis* 135(5) : 1176-85, 1987.
76. Henry PJ, Rigby PJ, Self GJ, Preuss JM, Goldie RG: Relationship between endothelin-1 binding site densities and constrictor activities in human and animal airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 100(4) : 786-792, 1990.
77. Honda ZI, Nakamura M, Miki I, Minami M, Watanabe T, Seyama Y, Okado H, Toh H, Ito K, Miyamoto T, Shimizu T: Cloning by functional expression of platelet activating factor receptor from guinea-pig lung. *Nature* 349 : 342-46, 1991.
78. Hua XY, Dahlen SE, Lundberg JM, Hammarström S, Hedqvist P: Leukotrienes C₄, D₄ and E₄ cause widespread and extensive plasma extravasation in the guinea pig. *Arch Pharmacol* 330 : 136-141, 1985.
79. Huang KL, Lin YC: Activation of complement and neutrophils increases vascular permeability during air embolism. *Aviat Space Environ Med* 68(4) : 300-5, 1997.
80. Huang KL, Lin YC: Pharmacologic modulation of pulmonary vascular permeability during air embolism. *Undersea Hyperb Med* 24(4) : 315-21, 1997.
81. Hwang SB, Li CL, Lam MH, Shen TY: Characterization of cutaneous vascular permeability induced by platelet-activating factor in guinea pigs and rats and its inhibition by a platelet-activating factor receptor antagonist. *Lab Invest* 52(6): 617-30, 1985.
82. Hwang SB, Lam MH: Species differences in the specific receptors of platelet activating factor. *Biochem Pharmacol* 35 : 4511, 1986.
-

-
83. Ihara M, Noguchi K, Saeki T, Fukuroda T, Tsuchida S, Kimura S, Fukami T, Ishikawa K, Nishikibe M, Yano M: Biological profiles of highly potent novel endothelin antagonists selective for the ETA receptor. *Life Sci* 50(4): 247-55, 1992.
84. Imai T, Vercellotti GM, Moldow CF, Jacob HS, Weir EK: Pulmonary hypertension and edema induced by platelet-activating factor in isolated, perfused rat lungs are blocked by BN52021. *J Lab Clin Med* 111(2) : 211-7, 1988.
85. Ishihara Y, Uchida Y, Kitamura S: Effect of thromboxane synthetase inhibitors (OKY-046, OKY-1580) on experimentally induced air embolism in anesthetized dogs. *Prostaglandins Leukot Med* 21(2) : 197-206, 1986.
86. Ishii I, Izumi T, Tsukamoto H, Umeyama H, Ui M, Shimizu T: Alanine exchanges of polar amino acids in the transmembrane domains of a platelet-activating factor receptor generate both constitutively active and inactive mutants. *J Biol Chem* 272(12): 7846-54, 1997.
87. Ishikawa K, Ihara M, Noguchi K, Mase T, Mino N, Saeki T, Fukuroda T, Fukami T, Ozaki S, Nagase T, et al.: Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective endothelin B-receptor antagonist, BQ-788. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(11): 4892-6, 1994.
88. Khong TY: Expression of endothelin-1 in amniotic fluid embolism and possible pathophysiological mechanism. *Br J Obstet Gynaecol* 105(7) : 802-4, 1998.
89. Koch, T: Pathomechanismen und Mediatoren der systemisch inflammatorischen Reaktion (SIRS) und Möglichkeiten zur therapeutischen Intervention. Habilitationsschrift, Fakultät für Klinische Medizin Mannheim, Universität Heidelberg, 1995.
-

90. Kurihara H, Yamaoki K, Nahai R: Endothelin: a potent vasoconstrictor associated with coronary vasospasm. *Life Sci* 44 : 1937-43, 1989.
91. Lal H, Woodward B, Williams KI: Actions of endothelins and sarafotoxin 6c in the rat isolated perfused lung. *Br J Pharmacol* 115(4) : 653-659, 1995.
92. Langleben D, Demarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Sewart DJ: Endothelin-1 in acute lung injury and Adult Respiratory Distress Syndrom. *Am Rev Respir Dis* 148 : 1646-50, 1993.
93. Lee JH, Chun YG, Lee IC, Tuder RM, Hong SB, Shim TS, Lim CM, Koh Y, Kim WS, Kim DS, Kim WD, Lee SD: Pathogenic role of endothelin 1 in hemodynamic dysfunction in experimental acute pulmonary thromboembolism. *Am J Respir Crit Care Med* 164(7): 1282-7, 2001.
94. Li SH, Fei X, Chen SF, Ding ZQ, Wu ZL: Pentoxifylline attenuates platelet activating factor-induced permeable edema in isolated perfused guinea pig lungs (Abstract). *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 15(3) : 219-22, 1994.
95. Lipton HL, Cohen GA, McMurtry IF, Hyman AL: Pulmonary vasodilation to endothelin isopeptides in vivo is mediated by potassium channel activation. *J Appl Physiol* 70(2) : 947-952, 1991.
96. Lipton HL, Hauth TA, Cohen GA, Hyman AL: Functional evidence for different endothelin receptors in the lung. *J Appl Physiol* 75(1) : 38-48, 1993.
97. Löffler G, Petrides E (Hrsg.). *Physiologische Chemie: Lehrbuch der medizinischen Biochemie und Pathobiochemie*. 4. Auflage. Springer-Verlag 1988.
-

-
98. Lorant DE, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA: In Vascular Adhesion Molecules and Inflammation: 81-107. Birkhauser Verlag, Basel, Schweiz, 1999.
99. Ludwig JC, Pinekard RN: Diversity of the chemical structures of neutrophil-derived platelet-activating factors. Aus Winslow CM, Lee ML (Hrsg.): New Horizons in Platelet Activating research. New York, John Wiley and Sons. 59-71, 1987.
100. MacLean MR, McCulloch KM, Baird M: Endothelin ETA- and ETB-receptor-mediated vasoconstriction in rat pulmonary arteries and arterioles. J Cardiovasc Pharmacol 23(5) : 838-45, 1994.
101. Macquin-Mavier I, Levame M, Istin N, Harf A: Mechanisms of endothelin-mediated bronchoconstriction in the guinea pig. J Pharmacol Exp Ther 250(2) : 740-5, 1989.
102. Malle E, Leis HJ, Karadi I, Kostner GM: Lipoxygenase and hydroxyeicosatetraenoic acid formation. Int J Biochem 19 : 1013-1023, 1987.
103. Matsumura Y, Ikegawa R, Hisaki K, Tsukahara Y, Takaoka M, Morimoto S: Conversion of big endothelin-1 to endothelin-1 by phosphoramidon-sensitive metalloproteinase derived from aortic endothelial cells. J Cardiovasc Pharmacol. 17 (Suppl 7): 65-7, 1991.
104. McCulloch KM, MacLean MR: EndothelinB receptor-mediated contraction of human and rat pulmonary resistance arteries and the effect of pulmonary hypertension on endothelin responses in the rat. J Cardiovasc Pharmacol 26(Suppl 3) : 169-176, 1995.
105. McCulloch KM, Docherty CC, Morecroft I, MacLean MR: Endothelin B receptor-mediated contraction in human pulmonary resistance arteries. Br J Pharmacol 119(6) : 1125-1130, 1996.
-

106. McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM: Biologically active oxidized phospholipids. *J Biol Chem* 274(36): 25189-92, 1999.
107. McKay KO, Black JL, Armour CL: The mechanism of action of endothelin in human lung. *Br J Pharmacol* 102(2) : 422-428, 1991.
108. McKay KO, Black JL, Diment LM, Armour CL: Functional and autoradiographic studies of endothelin-1 and endothelin-2 in human bronchi, pulmonary arteries and airway parasympathetic ganglia. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 7): 206-09, 1991.
109. McManus LM, Deavers SI: Platelet activating factor in pulmonary pathobiology. *Clin Chest Med* 10(1) : 107-18, 1989.
110. Michael JR, Markewitz BA: Endothelins and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 555-81, 1996.
111. Minkes RK, Bellan JA, Saroyan RM, Kerstein MD, Coy DH, Murphy WA, Nossaman BD, McNamara DB, Kadowitz PJ: Analysis of cardiovascular and pulmonary responses to endothelin-1 and endothelin-3 in the anesthetized cat. *J Pharmacol Exp Ther* 253(3) : 1118-25, 1990.
112. Miyahara T, Koizumi T, Kubo K, Hanaoka M, Kaneki T, Yamamoto H, Ge RL, Fujimoto K, Kobayashi T, Shibamoto T: Endothelin receptor blockade attenuates air embolization-induced pulmonary hypertension in sheep. *Eur J Pharmacol* 385: 163-9, 1999.
113. Mojarad M, Hamasaki Y, Said SI: Platelet-activating factor increases pulmonary microvascular permeability and induces pulmonary edema. A preliminary report. *Bull Eur Physiopathol Respir* 19(3) : 253-6, 1983.
-

-
114. Mueller HW, O'Flaherty JT, Wykle RS. Biosynthesis of platelet activating factor in rabbit polymorphonuclear neutrophils. *J Biol Chem* 258: 6213-18, 1983.
115. Murphy LJ, Greenhough KJ, Turner AJ: Processing and metabolism of endothelin peptides by porcine lung membranes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 22(Suppl 8): 94-7, 1993.
116. Nakamichi K, Ihara M, Kobayashi M, Saeki T, Ishikawa K, Yano M: Different distribution of endothelin receptor subtypes in pulmonary tissues revealed by the novel selective ligands BQ-123 and [Ala^{1,3,11,15}]ET-1. *Biochem Biophys Res Commun* 182(1): 144-50, 1992.
117. Nakos G, Kitsioulis EI, Lekka ME: Bronchoalveolar lavage alterations in pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 1504-10, 1998.
118. Needleman PH, Turk J, Jakschik BA, Morrison AR, Lefkowitz JB: Arachidonic acid metabolism. *Ann Rev Biochem* 55 : 69-102, 1986.
119. Neuhofer H, Seeger W, Suttrop N: Activation of the pulmonary arachidonic acid system and its consequences for hemodynamics and fluid balance. *Prog Clin Biol Res* 236: 289-300, 1987.
120. Ohkuda K, Nakahara K, Binder A, Staub NC: Venous air emboli in sheep: reversible increase in lung microvascular permeability. *J Appl Physiol* 51(4) : 887-94, 1981.
121. Patrignani P, Del-Maschio A, Bazzoni G, Daffonchio L, Hernandez A, Modica R, Montesanti L, Volpi D, Patrono C, Dejana E: Inactivation of endothelin by polymorphonuclear leukocyte-derived lytic enzymes. *Blood* 78(10) : 2715-20, 1991.
-

122. Payne AN, Whittle BJ: Potent cyclo-oxygenase-mediated bronchoconstrictor effects of endothelin in the guinea-pig in vivo. *Eur J Pharmacol* 158(3) : 303-4, 1988.
123. Peeters FA, Van den Bossche R, Bult H, Herman AG: Thromboxane and prostacyclin production in the perfused rabbit lung. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 43(4) : 239-46, 1991.
124. Perkett EA, Brigham KL, Meyrick B: Continuous air embolization into sheep causes sustained pulmonary hypertension and increased pulmonary vasoreactivity. *Am J Pathol* 132(3): 444-54, 1988.
125. Perreault T, De Marte J: Endothelin-1 has a dilator effect on neonatal pig pulmonary vasculature. *J Cardiovasc Pharmacol* 18(1): 43-50, 1991.
126. Peskar BA, Steffens CH, Peskar BM: Radioimmunoassay of 6-keto-Prostaglandin F1-alpha in biological material. *Radioimmunoassay of Drugs and Hormones in Cardiovascular Medicine*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1979.
127. Prescott SM, McIntyre TM, Zimmermann GA: The role of platelet activating factor in endothelial cells. *Thromb Haemost* 64: 99-103, 1990.
128. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM: Platelet-Activating Factor And Related Lipid Mediators. *Annu Rev Biochem* 69: 419-45, 2000.
129. Rautanen M, Gullichsen E, Riutta A, Kuttala K, Mucha I, Nelimarkka O, Niinikoski J: Experimental fat embolism induces urine 2,3-dinor-6-ketoprostaglandin F1alpha and 11-dehydrothromboxane B2 excretion in pigs. *Crit Care Med* 25(7) : 1215-21, 1997.
-

-
130. Sakata K, Ozaki H, Kwon SC, Karaki H: Effects of endothelin on the mechanical activity and cytosolic calcium level of various types of smooth muscle. *Br J Pharmacol* 98(2) : 483-492, 1989.
131. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348 : 732-5, 1990.
132. Sato K, Oka M, Hasunuma K, Ohnishi M, Sato K, Kira S: Effects of separate and combined ETA and ETB blockade on ET-1-induced constriction in perfused rat lungs. *Am J Physiol* 269: 668-72, 1995.
133. Schmeck J, Koch T, Neuhof H, van Ackern K: Endothelin-1 is not involved in pulmonary hypertension after lung embolism in isolated perfused rabbit lungs. *Appl Cardiopulm Pathophysiol* 7: 33-40, 1998.
134. Schmeck J, Koch T, Patt B, Heller A, Neuhof H, van Ackern K: The role of endothelin-1 as a mediator of the pressure response after air embolism in blood perfused lungs. *Intensive Care Med* 24(6) : 605-11, 1998.
135. Schmeck J, Janzen R, Munter K, Neuhof H, Koch T: Endothelin-1 and thromboxane A2 increase pulmonary vascular resistance in granulocyte-mediated lung injury. *Crit Care Med* 26(11) : 1868-74, 1998.
136. Schultz R, Seeger W: Release of leukotriens into the perfusate of calcium-ionophor stimulated rabbit lungs. Influence of 5-lipoxygenase inhibitors. *Biochem Pharmacol* 35 : 183-93, 1986.
137. Schweizer A, Valdenaire O, Nelbock P, Deuschle U, Dumas M, Edwards JB, Stumpf JG, Loffler BM: Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): three isoforms with distinct subcellular localizations. *Biochem J* 328: 871-77, 1997.
-

138. Shen TY, Hwang S-B, Doebber TW, Robins JC: In Platelet-Activating Factor and Related Lipid Mediators: 153-90. Plenum, New York 1987.
139. Shimada K, Matsushita Y, Wakabayashi K, Takahashi M, Matsubara A, Iijima Y, Tanzawa K: Cloning and functional expression of human endothelin-converting enzyme cDNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 207(2) : 807-12, 1995.
140. Shimada K, Takahashi M, Ikeda M, Tanzawa K: Identification and characterization of two isoforms of an endothelin-converting enzyme-1. *FEBS-Lett.* 371(2) : 140-4, 1995.
141. Shirakami G, Nakao K, Saito Y, Magaribuchi T, Jougasaki M, Mukoyama M, Arai H, Hosoda K, Suga S, Ogawa Y, et al: Acute pulmonary alveolar hypoxia increases lung and plasma endothelin-1 levels in conscious rats. *Life Sci* 48(10) : 969-76, 1991.
142. Shukla SD: Platelet-activating factor receptor and signal transduction mechanisms. *FASEB J* 6(6): 2296-301, 1992.
143. Siegenthaler (Hrsg.). *Klinische Pathophysiologie*: 631-3, Thieme Verlag, 7. Auflage, 1994.
144. Sofia M, Faraone S, Alifano M, Micco A, Albisinni R, Maniscalco M, Di Minno G: Endothelin abnormalities in patients with pulmonary embolism. *Chest* 111(3) : 544-9, 1997.
145. Stafforini DM, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM: Mammalian platelet-activating factor acetylhydrolases. *Biochim Biophys Acta* 1301(3): 161-73, 1996.
146. Steward AG, Dubbin PN, Harris R, Dusting GJ: Platelet-activating factor may act as a second messenger in the release of eicosanoids and
-

superoxide anion from leukocytes and endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 87: 3215-3219, 1990.

147. Sudjarwo SA, Hori M, Takai M, Urade Y, Okada T, Karaki H: A novel subtype of endothelin B receptor mediating contraction in swine pulmonary vein. Life Sci 53(5) : 431-437, 1993.

148. Tanus-Santos JE, Gordo WM, Udelsmann A, Cittadino MH, Moreno H: Nonselective endothelin-receptor antagonism attenuates hemodynamic changes after massive pulmonary air embolism in dogs. Chest 118(1):175-9, 2000.

149. Todd MH, Cragg DB, Forrest JB, Ali M, McDonald JW: The involvement of prostaglandins and thromboxanes in the response to pulmonary embolism in anaesthetized rabbits and isolated perfused lungs. Thromb Res 30(1) : 81-90, 1983.

150. Todd MH, Forrest JB, Cragg DB: The effects of aspirin and methysergide on responses to clot-induced pulmonary embolism. Am Heart J 105(5) : 769-76, 1983.

151. Tsang J, Battistini B, Dussault P, Stewart K, Qayumi KA: Biphasic release of immunoreactive endothelins following acute pulmonary thromboembolism in pigs. J Cardiovasc Pharmacol 36(Suppl 1): 221-4, 2000.

152. Turner NC, Power RF, Polak JM, Bloom SR, Dollery CT: Endothelin-induced contractions of tracheal smooth muscle and identification of specific endothelin binding sites in the trachea of the rat. Br J Pharmacol 98(2) : 361-366, 1989.

153. Turner AJ, Murphy LJ: Molecular pharmacology of endothelin converting enzymes. Biochem-Pharmacol. 51(2): 91-102, 1996.

154. Uchida Y, Saotome M, Nomura A, Ninomiya H, Ohse H, Hirata F, Hasegawa S: Endothelin-1-induced relaxation of guinea pig trachealis muscles. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 7): 210-12, 1991.
155. Uhlig S, von Bethmann AN, Featherstone RL, Wendel A: Pharmacologic characterization of endothelin receptor responses in the isolated perfused rat lung. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 1449-1460, 1995.
156. Uhlig S, Featherstone RL: The interaction of endothelin receptor responses in the isolated perfused rat lung. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 356(3) : 392-397, 1997.
157. Valdenaire O, Rohrbacher E, Mattei MG: Organization of the gene encoding the human endothelin-converting enzyme (ECE-1), *J Biol Chem* 270(50) : 29794-8, 1995.
158. Vanderhoek JY, Bryant RW, Bailey JM: 15-HETE, a potent and selective inhibitor of platelet lipooxygenase. *J Biol Chem* 255 : 5996-98, 1980.
159. Vanderhoek JY, Bryant RW, Bailey JM: Inhibition of leukotriene biosynthesis by the leukocyte product 15-HETE. *J Biol Chem* 255: 10064-65, 1980.
160. Voelkel NF: Species variations in the pulmonary responses to arachidonic acid metabolites. *Prostaglandins* 29(5) : 867-89, 1985.
161. Wagner OF, Vierhapper H, Gasic S, Nowotny P, Waldhausl W: Regional effects and clearance of endothelin-1 across pulmonary and splanchnic circulation. *Eur J Clin Invest* 22(4) : 277-82, 1992.
-

-
162. Wang D, Li MH, Hsu K, Shen CY, Chen HI, Lin YC: Air embolism-induced lung injury in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 72(4) : 1235-42, 1992.
163. Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A: Endothelin in myocardial infarction. *Nature* 344: 114, 1990.
164. Weitzberg E, Lundberg JM, Rudehill A: Elevated plasma levels of endothelin in patients with sepsis Syndrom. *Circ Shock* 33: 222-7, 1991.
165. Weller PF, Lee CW, Foster DW, Corey EJ, Austen KF, Lewis RA: Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotriens by human eosinophils: Predominant production of leukotriene C₄. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7626-30, 1983.
166. Wellhöner HH: Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie. 5. Auflage, Berlin-Heidelberg-New York, Springer 1990.
167. Whatley RE, Zimmermann GA, McIntyre TM, Prescott SM: Endothelium from diverse vascular sources synthesizes platelet-activating factor. *Arteriosclerosis* 8: 321-331, 1988.
168. White SR, Hathaway DP, Umans JG, Tallet J, Abrahams C, Leff AR: Epithelial modulation of airway smooth muscle response to endothelin-1. *Am Rev Respir Dis* 144(2): 373-378, 1991.
169. Worthen GS, Goins AJ, Mitchel BC, Larsen GL, Reeves JR, Henson PM: Platelet-activating factor causes neutrophil accumulation and edema in rabbit lungs. *Chest* 5: 13, 1983.
170. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988.
-

171. Yoshimoto T, Soberman RJ, Lewis RA, Austen KF: Isolation and characterization of leukotrien C₄ synthetase of rat basophilic leukemia cells. Proc Natl Acad Sci USA 82: 8399-403, 1985.
-

Danksagungen

Danken möchte ich zunächst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Heinz Neuhof für die Überlassung des Themas meiner Arbeit, seine Hilfsbereitschaft, seine persönliche Betreuung und für seine Geduld während aller Phasen ihrer Durchführung.

Frau Dr. med. Irmgard Kelbel und Herrn PD Dr. med Joachim Schneck gilt mein Dank für ihre Unterstützung während der Planungsphase und der Zeit der praktischen Arbeit im Labor sowie für ihre Hilfsbereitschaft im Rahmen der schriftlichen Zusammenfassung.

Mit Rat und Tat zur Seite standen mir die Mitarbeiter des Instituts für experimentelle Medizin, Frau Antje Weber und Herr Harald Michnacs.

Für Tips zur formellen Gestaltung der schriftlichen Niederlegung meiner Arbeit sowie Hilfestellung bei der Recherche im Literaturarchiv unseres Labors geht mein Dank an Frau Tiziana Wieht und Herrn Müller.

Steffen Matthias Grünling

geboren am 26.01.1971 in Böblingen,
Baden-Württemberg.

Familienstand: verheiratet, ein Kind

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

1977 - 1979	Grundschule am Weilerhau, Filderstadt
1979 - 1981	Grundschule Salzäcker, Stuttgart-Möhringen
1981 - 1990	Königin-Charlotte-Gymnasium, Stuttgart-Möhringen

Zivildienst

1990 - 1991	Im Pflegedienst einer internistischen Intensivstation, Filderklinik, Filderstadt
-------------	---

Studium der Humanmedizin

1992 - 1998	Justus-Liebig-Universität, Gießen, Studiengang Humanmedizin
1994	Physikum
1995	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1997	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1998	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

1997 - 1998	Innere Medizin bei Herrn Prof. Dr. med. Dieter Heinrich an der Medizinische Klinik II, Akademisches Lehrkrankenhaus Wetzlar Chirurgie bei Herrn Prof. Dr. med. Brobmann und Herrn Prof. Dr. med. Knaepler am Akademischen Lehrkrankenhaus Wetzlar Anästhesie bei Herrn Prof. Dr. med. Volker Ehehalt am Akademischen Lehrkrankenhaus Lich
-------------	---

Famulaturen

1994	Innere Medizin bei Herrn Dr. med. Gerlach, Krankenhaus Bethesda, Stuttgart
------	---

-
- | | |
|-------------|---|
| 1995 | Neurologie bei Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Dorndorf, Universitätsklinik Gießen |
| 1996 | Chirurgie bei Herrn Dr. med. Johannes Hardt, Filderklinik, Filderstadt |
| 1997 | Praxisfamulatur Anästhesie, Gemeinschaftspraxis Drs. Albrecht, Rall, Ebert, Maier-Bethke, Stuttgart. |
| | Ärztliche Tätigkeit |
| 1999 – 2000 | Arzt im Praktikum am Diakonie-Krankenhaus Schwäbisch Hall, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg in der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin. |
| 2000-2003 | Dort seit Dezember 2000 Assistenzarzt.
Weitere Publikationen:
Grünling S, Rosenhagen K, Ullrich W:
Tracheobronchopathia osteochondroplastica
Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther
2001;36:110-114 |
-